©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Untersuchungen über die Oxydation des Eiweisses mittelst Kaliumpermanganat.

Von **Richard Maly** in Graz.

Den vielen Untersuchungen über die Zerspaltung des Eiweisses durch Säuren und Alkalien, sowie durch Fermente, stehen nur wenige Arbeiten gegenüber, bei denen das einwirkende Reagens ein directes Oxydationsmittel ist, und auch diese Arbeiten sind meist der früheren Zeit angehörig.

Guckelberger[1] hat im Jahre 1847 in Liebig's Laboratorium die trockenen Eiweisssubstanzen, wie Albumin, Fibrin, Caseïn, mit Braunstein und verdünnter Schwefelsäure sowie auch mit Chromsäuremischung behandelt und die dabei entstandenen flüchtigen Producte untersucht; er fand im ersten Falle die fetten Säuren von der Ameisensäure bis zur Capronsäure, Benzoësäure und die Aldehyde der Essig-Propion-Butter- und Benzoësäure. Bei Anwendung des Chromsäuregemisches wurden ziemlich dieselben Substanzen nebst Blausäure und einem zimmtartig riechenden Öle erhalten.

Keller[2] hat, die Identität der Thier- und Pflanzeneiweissstoffe betonend, das Verfahren Guckelberger's auf Kleber angewandt und die gleichen Oxydationsproducte erhalten und Fröhde[3] hat, die Chromsäureversuche nach verschiedenen Richtungen fortsetzend, sie auch auf das Zersetzungsproduct des Eiweisses, das Tyrosin selbst ausgedehnt. Immer sind dabei die genannten, verhältnissmässig einfach constituirten Oxydationsproducte erhalten worden, und zwar vorwiegend stickstofffreie Substanzen, während der Stickstoff nur in Form von Blausäure,

---

[1] Liebig's Annal. d. Chem. u. Pharm. **64.** 39.
Daselbst **72.** 24.
Erdmann's Journ. **79.** 303 und 483; **77.** 290 und **80.** 344.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

flüchtigen Nitrilen oder rückständigem Ammoniumsulfat erhalten wurde.

Gorup-Besanez[1] hat durch die Einwirkung von Ozon auf die Eiweisskörper keine wohl characterisirten Substanzen erhalten können.

Oxydationen in alkalischer Lösung sind einige Male mittelst Kaliumpermanganat versucht worden. Die älteren derlei Versuche rühren von Bechamp[2] her, welcher zu verschiedenen Malen darauf zurückkam, indem er die Idee verfolgte, die Zerfallsproducte des Eiweisses im thierischen Organismus, speciell den Harnstoff durch künstliche Eiweissoxydation herzustellen, ein Resultat, das erhalten zu haben er auch wiederholt behauptet. Bechamp beschreibt in seiner Strassburger These die Einwirkung folgendermassen. 10 Grm. Albumin werden in der 30-fachen Menge Wasser gelöst und allmählig mit 75 Grm. Kaliumpermanganat versetzt. Die anfangs lebhafte Reaction hört bald auf, worauf man bis auf 40° erwärmt und den grösseren Theil des Alkalis mit Schwefelsäure abstumpft. Nach vollendeter Entfärbung wird filtrirt, mit Schwefelsäure neutralisirt, eingeengt und der Rückstand mit starkem Alkohol versetzt, wobei sich die Sulfate von K und NH_4 abscheiden. Nach wiederholter Behandlung des Alcoholextractes mit neuem Alkohol wird ein Rückstand erhalten, in dem Harnstoff leicht nachweisbar ist. Dabei ist stärkste Oxydation, also grosser Überschuss von Permanganat nöthig. Quantitative Versuche mit dem als Harnstoff betrachteten Körper hat Bechamp nicht angestellt. Übereinstimmend mit Bechamp gibt später Ritter[3] an, bei gleicher Reaction Harnstoff erhalten zu haben und zwar 0·09 Grm. aus 30 Grm. Albumin.

---

[1] Liebig's Annal. **110.** 96.

[2] Essai sur les substances albuminoides et sur leur transformation en urée. Thèse, Strassburg 1856. Bekannt durch: Cannstatt's Jahresb. ü. d. Fortschritte der Pharmazie 1856. Ferner Bechamp: Recherches sur les produits de l'oxydation des substances albuminoides par l'hypermanganate de potasse, Annal. de Chim. et de Phys. **57.** 291 durch Cannstatt's Jahresb. für 1859; Sur la formation de l'urée par l'action de l'hypermanganate de potasse sur les matières albuminoides, Compt. rend. **70.** 866 und Compt. rend. **73.** 1323.

[3] Compt. rend. 1871 und Jahresb. d. Thierchemie **1.** 13.

Den Angaben dieser beiden Chemiker steht eine Reihe völlig abweichender Resultate gegenüber. Sofort nach dem Erscheinen von Bechamp's These im Jahre 1857 hat Städeler,[1] die fundamentale Wichtigkeit des künstichen Abbaues von Eiweiss zu einfachen Stoffwechselproducten erkennend, in seinem Laboratorium unter Einhaltung von Bechamp's Vorschrift ebenfalls Albumin mit Kaliumpermanganat behandelt, aber keinen Harnstoff, sondern nur etwas Benzoësäure im letzten Alkoholextract auffinden können. Zu ebensolchen negativen Resultate kamen später Loew[2] und Tappeiner,[3] welcher letztere in vier genau Bechamp nachgeahmten Versuchen keinen Harnstoff erhalten konnte. Damit können Bechamp's Angaben als definitiv widerlegt angesehen werden, wozu noch kommt, dass neuestens F. Lossen[4] bei Einwirkung einer mässigen Menge des Permanganates zwar ebenfalls keinen Harnstoff, aber eine kleine Menge Guanidin erhielt, das als Goldchloriddoppelsalz analysirt werden konnte.

Haben demnach die besprochenen Oxydationsversuche das gewünschte und gesuchte specielle Ziel nicht erreicht, so sind sie anderseits noch mehr schuldig geblieben, nämlich anzugeben, was aus dem Eiweiss entsteht, denn die kleine Guanidinmenge Lossen's, so bemerkenwerth das Auftreten dieses Körpers ist, steht zur Menge des oxydirten Albumins in keinem Verhältniss.

Nun findet sich in Bechamp's erster Arbeit von 1856 aber doch eine Andeutung über ein Product, das Bechamp jedoch nur nebenbei erwähnte und als mit der Aufsuchung des Harnstoffs in keiner Beziehung stehend, nicht näher beachtete. Er sagt nämlich, dass bei der ersten Einwirkung des Kaliumpermanganates die Eiweissflüssigkeit gallertartig, mit fortschreitender Oxydation aber wieder flüssig werde und dass, wenn das Permanganat nur allmälig und in unzureichender Menge zugesetzt wird, im farblosen Filtrat vom Braunsteinschlamm auf Zusatz von verdünnter Schwefelsäure ein weissflockiger Niederschlag einer

---

[1] Erdmann's Jour. prakt. Chem. **72.** 251.

[2] Journ. f. prakt. Chem. N. F. **2.** 289.

[3] Sep. Abd. aus den Bericht. d. mathem. naturw. Classe d. k. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. vom 6. Mai 1871.

[4] Liebig's Annalen **201.** 369.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Substanz entstehe, die dem Eiweiss ähnlich sieht. In einer späteren Mittheilung bezeichnet Bechamp[1] den Niederschlag als eine in Wasser völlig unlösliche, vom Albumin verschiedene Substanz, und gibt an, dass sie nach intensiverer Oxydation mit dem Permanganat nicht mehr auffindbar sei, dass dann hingegen eine lösliche Substanz als Kalisalz vorhanden sei, die mit dem Geruch nach verkohltem Horn verbrennt.

Auch Lossen, welcher 500 Grm. käufliches Hühnereiweiss mit nur 375 Grm. Kaliumpermanganat behandelte, gedeckt der voluminösen Fällung, welche Schwefelsäure in seinem Braunsteinfiltrate erzeugte, während Städeler, welcher auf 1 Theil Albumin $3^1/_2$ Theile Permanganat anwandte und Tappeiner, welcher auf 20 Grm. trockenes Hühnereiweiss 200 Grm. übermangansaures Kalium einwirken liess, von dem durch Schwefelsäure voluminös fällbaren Körper nichts erwähnen und denselben wohl auch nicht erhielten.

Dieses durch Säure fällbare Product mässiger Oxydation des Albumins durch Kaliumpermanganat war, da es niemals auch nur einigermassen untersucht und nur als unerwünschtes Nebenproduct erhalten worden war, völlig in Vergessenheit gekommen, bis es kürzlich E. Brücke[2] wieder von neuem auffand und qualitativ so weit untersuchte, dass er den Körper mit Sicherheit als vom Eiweiss verschieden, mit Wahrscheinlichkeit als reine Substanz, und zwar als eine „stickstoff und schwefelhaltige unkrystallisirbare Säure" bezeichnen konnte. Brücke stellte vor Allem durch eine Reihe von Reactionen fest, dass die fragliche Substanz, die er aus dem Filtrate vom Manganniederschlag immer mittelst Essigsäure ausfällte, keine Eiweisssubstanz mehr sei, denn sie gab die für die Eiweisssubstanzen als generell bezeichneten Reactionen nicht mehr; sie färbte sich mit Salpetersäure und Kali nicht gelb, mit Millon's Reagens nicht roth, sie gab nicht die Probe mit Zucker und Schwefelsäure, nicht jene mit Eisessig und Schwefelsäure und wurde endlich beim Kochen mit Salzsäure nicht violett. Auch enthielt die Substanz keinen durch

---

[1] Ann. de Chim. et de Phys. **57.** 291 durch Canstatt's Jahresb. d. Pharm. pro 1859.

[2] Sitzungsb. d. k. Akademie 1881 II. Abth. und Monatshefte f. Chemie. **2.** 23.

Kochen mit Kali und Bleizuckerlösung nachweisbaren Schwefel. Brücke gibt ferner noch von seiner Substanz an, dass sie in alkalischer Lösung Kupferoxyd mit violetter Farbe aufnimmt, dass sie Stickstoff und durch Schmelzen mit Kali und Salpeter nachweisbaren Schwefel enthält. Sie hat die Eigenschaften einer schwachen Säure und ist in Ammoniak und Alkalien löslich. Auch in starken Mineralsäuren löst sie sich auf, aus welchen Lösungen Wasser einen Niederschlag fällt. In den neutralen oder schwach sauren Lösungen bringen Metallsalze Fällungen hervor. In ihren physikalischen Eigenschaften ist die Substanz dem Eiweiss noch einigermassen ähnlich; sie dreht links.

Brücke hat ferner angedeutet, welches Interesse dieser Substanz gebührt, die durch einen Oxydationsprocess aus dem Hühneralbumin entstehend, leicht in relativ grosser Menge gewinnbar ist, hat aber gleichzeitig auch darauf verzichtet, den Körper weiter zu studieren.

Die in den folgenden Blättern von mir mitgetheilten Untersuchungen sollen die Kenntnisse über jenes Gebiet erweitern, das Brücke durch die genannte Abhandlung aufgeschlossen hat.

Eigene Versuche.

Es war mir zunächst daran gelegen zu erfahren, ob ausser dem Hühnereiweiss auch andere, oder ob alle Eiweisssubstanzen mit Permanganat diese eigenthümliche Brücke'sche Säure geben. Ich habe daher die wichtigeren Repräsentanten der Eiweissstoffe der Reihe nach mit dem genannten Reagens behandelt und davon die coagulirbaren sowohl im flüssigen als im coagulirten Zustande. Dabei war von quantitativen Verhältnissen abgesehen und nur überhaupt untersucht, ob sich die anderen Eiweissstoffe ebenso verhalten, wie es Brücke für flüssiges Hühnereiweiss beschrieben hat.

Wenn Eiereiweiss flockig coagulirt und der abfiltrirte Niederschlag zum Brei zerrührt mit Kaliumpermanganat behandelt wird, tritt unter anfänglicher Erwärmung und Verdickung bis zur Gallerteconsistenz später wieder Verflüssigung ein, genau wie bei dem nicht coagulirten Eiweiss, und aus dem farblosen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Filtrate wird die erwartete Säure, in so weit ersichtlich, gleicher Menge und mit allen den von Brücke angegebenen Eigenschaften ausgefällt. Das Gleiche gilt für Serumalbumin vom Rind im flüssigen, wie im coagulirten Zustande. Diese vier Eiweissformen zeigen also ein ganz übereinstimmendes Verhalten.

Fibrin vom Rind (das früher in Alkohol aufbewahrt gewesen, dann 24 Stunden lang ausgewässert worden war) imbibirt sich, mit Kaliumpermanganatlösung übergossen rasch mit Braunstein und zerfällt. Es wurde noch so viel Reagens hinzugefügt, dass das Ganze zwei Tang röthlich gefärbt blieb, dann mit ein paar Tropfen Alkohol entfärbt und filtrirt. Das klare, farblose Filtrat gab mit Säure eine reichliche, flockig weisse Fällung, die mit verschiedenen Reagentien geprüft, sich gerade so verhielt wie die aus Eiweiss erhältliche Substanz.

Caseïn gab gleichfalls nach vorgängiger Gallertebildung ein farbloses Filtrat, aus dem die fragliche Säure ausgefällt werden konnte. Da auch Caseïn aus seiner Lösung in alkalischen Mitteln durch Säuren weiss und flockig gefällt wird, so war es nothwendig, sich vor Täuschung zu bewahren; dies war schon dadurch möglich dass die Fällung mit Kali und Bleiacetat gekocht, sich nicht mehr schwärzte, es wird aber später noch weiter angegeben werden, wie man sogleich und scharf die Caseïnfällung von der der neuen Substanz unterscheiden kann.

Kleber und Conglutin (letzteres aus süssen Mandeln erhalten) verhielten sich den vorher genannten Körpern ebenfalls ähnlich, nur war nach dem Augenschein in beiden Fällen die ausfällbare Säuremenge beträchtlich geringer als bei den Eiweissstoffen thierischer Abkunft.

Anders verhielten sich dagegen Pepton und Propepton (Hemialbumose); beides waren sehr reine Präparate. Weder nach mässiger, kurzdauernder, noch nach intensiver Einwirkung vom Permanganat, wobei die Gallertebildung allerdings immer beobachtet wurde, konnte aus den Filtraten durch stärkere Säuren die Fällung erhalten werden. Die beiden Peptonformen des Eiweisses zeigen sich also auch der Oxydation gegenüber nur in löslichen Gestalten, sie geben nichts Ausfällbares mehr. Gleichwohl sind sie oxydirt und verändert worden; denn während die angewandten Peptone bei der bekannten Bleioxydkaliprobe

leicht und stark Schwefelblei bildeten, konnten die betreffenden Filtrate vom Braunstein andauernd mit Lauge und Bleioxyd gekocht werden ohne sich im Geringsten zu schwärzen.

Aus dem Bisherigen folgt, dass nur die unpeptonisirten Eiweisssstoffe die neue fällbare Säure geben; die peptonisirten liefern sie nicht mehr.

Eine zweite Vorversuchsreihe beschäftigte sich damit, den Einfluss steigender Mengen von Kaliumpermanganat zu untersuchen, um festzustellen, wie weit die Bildung der unlöslichen neuen Säure dadurch beeinflusst wird, und bei welchem Verhältniss behufs Darstellung im Grossen, die Ausbeute sich am günstigten gestaltet.

Es wurde dazu trockenes Eiereiweiss genommen, und zwar bei der Reihe I ein käufliches, bei der Reihe II ein von mir selbst sehr sorgfältig durch Trocknen bis 30° dargestelltes Präparat.

I. Reihe.

Angewandte Verhältnisse:

a) 10 Grm. trockenes Eiweiss + 6 Grm. $KMnO_4$.
b) 10 „ 10
c) 10 „ 14

Nachdem das Eiweiss in gleichen Mengen Wassers gelöst und die gewogene Menge Permanganat hinzugefügt war, blieben alle drei Proben bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Nach vier bis fünf Tagen ist in *a* und *b* alles Permanganat reducirt und über dem Manganniederschlag steht die klare farblose Flüssigkeit. In *c* ist keine solche Scheidung eingetreten und auch nach neun Tagen ist die Flüssigkeit noch roth, also jene Quantität de Permanganates überschritten, welche bei Zimmertemperatur leicht und völlig reducirt wird. Nachdem *c* durch einige Tropfen Alkohol entfärbt worden, werden alle drei Proben filtrirt, die Filtrate durch die Waschwässer auf je ein Liter gebracht und mit verdünnter Schwefelsäure versetzt. In *a* und *b* entstehen sofort voluminöse flockige Fällungen, in *a* noch etwas mehr als in *b*, während die Probe *c* klar bleibt und erst nach mehreren Stunden einige Flocken absetzt, die gesammelt sich gegen Reagentien ebenso verhielten, als die aus *a* und *b* erhaltene Säure.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Um noch weiter den Einfluss überschüssigen Permanganates zu erkennen, wird der grösste Theil der Säurefällung aus *b* in Wasser vertheilt, mit etwas Lauge in Lösung gebracht, dann mit Permanganat versetzt und weitere acht Tage stehen lassen. Nach Beseitigung den letzten Röthung durch einige Tropfen Alkohol und des Braunsteinschlammes durch Filtration, gab das farblose Filtrat nach starkem Ansäuern mit Essigsäure oder Schwefelsäure nicht die geringste Fällung mehr, aber sie gab noch mit Kali und Kupfervitriol intensive sogenannte Biuretreaction.

Reihe II.

Bei diesem Versuche wurde eine Stufenleiter von sieben Gliedern angesetzt, und die Filtrate vom Braunstein ausser auf die relative Menge der ausfällbaren Brücke'schen Säure auch auf das Vorhandensein von noch unverändertem Eiweiss geprüft. Ferner sollte untersucht werden, ob und in welchen Proben nach dem Ausfällen der Brücke'schen Säure noch ein die Biuretreaction gebender Körper vorhanden ist.

Angewandte Verhältnisse:

a)	10	Grm.	trockenes Eiweiss +	3	Grm. $KMnO_4$.
b)	10	„		4	
c)	10		„	5	„
d)	10		„	6	„
e)	10			8	
f)	10	„		11	
g)	10		„	14	

Am andern Tage sind *a* und *b* sowie *f* und *g* flüssig, die mittleren Proben *c*, *d*, *e* gallertig; nach acht Tagen Zimmertemperatur sind *a* und *b* noch immer braune Flüssigkeiten ohne Scheidung, die theerartig durchs Filter laufen; in allen übrigen ist nach dieser Zeit deutliche Scheidung eingetreten und die Filtrate laufen klar vom Braunstein ab. Die folgende kleine Tabelle zeigt das nähere Verhalten der Filtrate.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Nr. des Versuches	Farbe d. Filtrates	Reaction auf Eiweiss[1]	Fällung mit Essigsäure	Fällung mit Schwefelsäure	Biuretprobe im Filtrate der Schwefelsäurefällung
a	unfiltrirbar und theerig	—	—	—	—
b		—	—	—	—
	gelb	einige Flocken	sehr viel	sehr viel	überall sehr starke Biuretreaction.
d	gelblich	sehr wenig	detto	detto	
	farblos	detto	beträchtlich weniger	weniger	
f	detto	nichts	sehr wenig	noch weniger	
g	detto	detto	nichts	einige Flocken	

[1] Die Reaction auf Eiweiss wurde so angestellt, dass die Flüssigkeit mit Essigsäure bis zur sauren Reaction, aber ohne dass noch ein Niederschlag eintrat, versetzt, und darauf nach Zusatz von Natriumsulfat erhitzt wurde.

Aus den beiden Versuchsreihen ergibt sich Folgendes: Bei Einwirkung von geringen Mengen Permanganat, etwa 30—40% vom trockenen Eiweiss (*a* und *b* von Reihe II), bleiben die reducirten Manganverbindungen in dem noch unveränderten Eiweisss gelöst und fassbare Producte sind nicht erhältlich. Das Eiweiss verschwindet bis auf Spuren bei Manganatmengen von 50% des angewandten Eiweisses. Von da an sind in der Oxydation

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

des Eiweisses zwei gut erkennbare Stadien zu unterscheiden, die durch die Leichtigkeit des Ablaufes und durch die Natur der dabei gebildeten Producte verschieden sind. Bei mittleren Mengen von 50 bis etwa 100% Kaliumpermanganat vom Eiweissgewichte tritt rasch, d. h. binnen zwei Tagen bei gewöhnlicher Temperatur völlige Reduction ein und in diesem Stadium ist eine grosse Menge der fällbaren Brücke'schen Säure gebildet, die also innerhalb einer beträchtlichen Breite der Oxydationswirkung erhältlich ist, am reichlichsten bei Mengen von 50—60%. Bei 80% ist die Ausbeute schon etwas kleiner.

Ist die Mischung reicher an Permanganat, so wird dieses, immer gewöhnliche Temperatur vorausgesetzt, nur mehr träge reducirt, es beginnt ein neues Stadium der Einwirkung und sobald circa 140% des Oxydationsmittels verbraucht worden sind, ist die unlösliche Säure bis auf Spuren verschwunden (Reihe I*c*; Reihe II*g*) und nur lösliche unfällbare Körper sind noch vorhanden, die aber durch die Eigenschaft bei Gegenwart von Kali Kupferoxyd violett zu lösen, mit der Brücke'schen Säure so wie mit der ganzen Eiweissgruppe noch verwandtschaftliche Beziehungen zeigen. Eine dieselbe Reaction gebende Säure wird aber immer von Anfang an im ersten Stadium der Oxydation neben der fällbaren Säure gebildet, denn sie ist schon vorhanden, wenn mit nur 50% Permanganat oxydirt wird, wobei die Ausbeute der fällbaren Säure die höchst erreichbare ist.

Demnach wird sich die folgende Arbeit gliedern:

I) in die Untersuchung der zuerst entstehenden, ausfällbaren Brücke'schen Säure, welche ich schon jetzt als Oxyprotsulfonsäure bezeichnen will, eine Bezeichnung, die später ihre nähere Begründung finden wird;

II) in die Untersuchung der neben der Oxyprotsulfonsäure entstehenden löslichen Säure;

III) in die Untersuchung der aus der Oxyprotsulfonsäure bei weiterer Permanganatoxydation entstehenden Körper.

Dabei muss ich aber bemerken, dass ich in dieser Abhandlung zwar auch zu II und III Beiträge bringe, aber fertige Resultate nur über die Oxyprotsulfonsäure, die vorwiegend der Gegenstand meines Programmes war.

I.

Darstellung und Eigenschaften der Oxyprotsulfonsäure.

Das verarbeitete Material war seltener Eier- oder Serumeiweiss, meist lösliches Eiereiweiss, von dem nach und nach viele Kilo käuflichen trockenen Präparates verarbeitet wurden. In der Mehrzahl der Fälle kamen, entsprechend den Voruntersuchungen über die günstigste Ausbeute, 300 Grm. in Wasser gelösten Eiweisses und die Lösung von 160 bis 180 Grm. Permanganat in eine sieben bis acht Liter fassende Flasche, die unter öfterem Schütteln stehen blieb. Dem dabei von Brücke Beobachteten habe ich nichts Neues hinzufügen; ich kann also nur wiederholen, dass sich bald eine steife Gallerte bildet, die beim Umkehren der Flasche als schwarzer gelatinöser Kuchen von verjüngter Flaschengestalt herabrutscht. Später wird alles dünnflüssig und nach zwei bis drei Tagen steht eine klare fast farblose Flüssigkeit über dem Braunsteinschlamm, der nun auf leinernen Spitzbeuteln zurückgehalten, dann mit lauem Wasser drei bis vier Mal, oder so oft, als ein Auszug noch durch Säure fällbar ist, aufgerührt, und auf die Spitzbeutel zurückgebracht wird. Nachdem das mit den Waschwässern vereinigte Filtrat noch durch Papier filtrirt worden ist, hat man nur mehr mit Säure zu fällen, wobei Salz- oder Schwefelsäure den gleichen Dienst thun, während Essigsäure weniger vollständig fällt und keine so klaren Filtrate gibt. Brücke hat schon aufmerksam gemacht, dass der bei anfänglichem Säurezusatz entstehende Niederschlag sich beim Mischen wieder löst, auch dann noch, wenn die ganze Flüssigkeit bereits stark sauer reagirt, eine Erscheinung, auf die ich alsbald zurückkommen werde. Es wird desshalb die Mineralsäure zugesetzt, bis in einer abfiltrirten Probe keine weitere Fällung mehr entsteht, wobei ein Überschuss ohne Belang ist. Der voluminöse Niederschlag ist grob flockig, gefälltem Thonerdehydrat ähnlich, aber noch etwas mehr weiss; er setzt sich binnen wenigen Stunden gut ab, so dass die überstehende Flüssigkeit abgehebert werden kann. Man wäscht noch einige Male durch Decantation, später auf grossen Papier- oder Filzfiltern bis das Waschwasser keine Salz- oder Schwefelsäure mehr anzeigt und legt den weissen kleisterartigen Niederschlag auf dicke Lagen Papiers. Grössere Mengen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

kann man aber dadurch allein nicht trocken bringen, denn die Oxyprotsulfonsäure ist ein vortrefflicher Boden für die Entwicklung von Schimmelpilzen, die nach ein paar Tagen selbst im Vacuum rasenbildend sich einstellen. Ich habe desshalb meinen oft ein halb bis ein Kilo betragenden nassen Niederschlag auf Porzellanschalen ausgebreitet und in einem grossen Blechkasten, wie er mir bei Verdauungsversuchen dient, bei 35—40° getrocknet. Er schrumpft dann stark und wird binnen 24 Stunden zu einer zerbröckelnden, spröden, weissgelben, durchscheinenden, gummi- oder dextrinähnlichen Masse, die sich leicht zu einem weissen Pulver zerreiben lässt. Wenn auch das Trocknen immer in gelinder Wärme vorgenommen worden ist, um in dem feuchten Niederschlag Zersetzungen zu vermeiden, so muss ich doch schon jetzt sagen, dass die Substanz gegen Wärme keineswegs empfindlich ist und dass sie, wenigstens im trockenen Zustande ohne die geringste Veränderung zu erleiden, 100 bis 120° C. aushält, wofür später mehrfach Belege sich finden werden. Gut ausgewaschen, enthält der Körper nur Spuren von Asche, ist er vorher einer weiteren Reinigung durch Lösen in Ammoniak und Ausfällen mit Salzsäure unterzogen worden, oft gar keine Asche mehr.[1]

Die Oxyprotsulfonsäure ist in reinem Wasser so wenig löslich, dass man sie fast als unlöslich bezeichnen könnte, wie folgende Bestimmung ergibt. Eine Portion mit verdünnter Salzsäure, aus alkalischer Lösung gefällter Substanz, wurde so lange gewaschen, bis im Filtrate keine Spur einer Chlorreaction mehr eintrat, dann in Wasser suspendirt und unter öfterem Schütteln 24 Stunden stehen gelassen.

Vom Filtrate gaben 250 CC. in der Platinschale abgedampft und bei 100° getrocknet, einen Rückstand von 0·0145 Grm.

Also lösen 100 Theile Wasser nur 0·0058 Theile Säure, oder ein Theil Säure braucht 17242 Theile Wasser von Zimmertemperatur zur Lösung.

---

[1] Ist die Verbindung nicht mit Mineralsäure, sondern mit Essigsäure gefällt worden, so geht das in letztere Säure unlösliche Ferriphosphat des Eiweisses mit in den Niederschlag.

Bei solcher Verdünnung ist eine Lösung der Oxyprotsulfonsäure durch kein Reagens mehr fällbar; weder Tannin, noch Silbernitrat, noch Nessler'sche Flüssigkeit, noch Taurocholsäure erzeugen eine Trübung. Hingegen bekommt man noch, wenn auch sehr schwach, die Biuretreaction, die also auch hier ihre Empfindlichkeit zur Geltung bringt; in grösserer Flüssigkeitsmenge, oder wenn man durch das Proberohr von oben herabsieht, ist violette Färbung gut erkennbar.

Salzlösungen, namentlich saure, nehmen etwas mehr Oxyprotsulfonsäure auf, wie man daran erkennt, dass die ersten Filtrate der aus alkalischer Lösung gefällten Säure stärkere Biuretreaction geben, als die späteren Waschwässer.

Dass unsere Säure sich in concentrirten Mineralsäuren leicht auflöst und dass durch Verdünnen mit Wasser wieder ein flockiger Körper ausfällt, der noch die Biuretaction gibt, hat schon früher Brücke gefunden; es wird später gezeigt werden, dass dies völlig unveränderte Säure ist. Die alkalischen Mittel, einbegriffen die kohlensauren Alkalien und Ammoniak, dann Kalk- und Barytwasser lösen sämmtlich die Säure leicht und klar auf. Vertheilt man frisch gefällte Säure in Wasser und setzt so viel von einem der genannten Mittel dazu, als nöthig ist um klare Lösung zu erzeugen, so reagirt die erhaltene Flüssigkeit noch stark sauer, enthält also ein sauer reagirendes, lösliches Salz. Um neutrale Reaction hervorzubringen, was unbeschadet der Klarheit der Lösung geschehen kann, muss man dann noch in beträchtlicher Menge vom alkalischen Mittel hinzufügen und dabei lässt sich leicht und recht genau der Punkt der Neutralisation finden, wie er durch Lakmus angezeigt wird.

Man kann daher auch umgekehrt, wie Brücke ausgeführt hat, zu der neutralen oder alkalischen Lösung eine solche Menge Essig- oder Mineralsäure zusetzen, dass schon stark saure Reaction aber noch keine bleibende Fällung eingetreten ist. Dies entspricht wieder dem Stadium, bei dem die Basisentziehung erst bis zur Bildung des sauren, sauer reagirenden Salzes gelangt ist.

Noch eine viel auffallendere und für unsere Säure charakteristische Eigenthümlichkeit ist hier hervorzuheben, da sie ebenfalls auf der besonderen Neigung, saure, lösliche Salze zu bilden, beruht. Die Oxyprotsulfonsäure ist nämlich

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

auch in den Lösungen neutraler (organischer) Salze löslich, besonders leicht, wenn sie im frisch gefällten, flockigen Zustande sich befindet. So z. B. nimmt eine neutrale Lösung von essigsaurem Natron, die frisch gefällte Säure reichlich unter fast augenblicklicher Bildung einer wasserklaren, aber stark, ja intensiv sauer reagirenden Flüssigkeit auf. Man hat Ähnliches, wenn auch nicht in so auffallender Weise an anderen wasserunlöslichen Säuren beobachtet, wofür die oft citirte Löslichkeit der Harnsäure in gewöhnlichem Natriumphosphat unter Bildung einer sauren Lösung ein bekanntes Beispiel ist. Auch die Oxyproteïnsulfonsäure löst sich im Dinatriumphosphat, diesem ein Atom Natrium entziehend; aber sie vermag, wie der obige Versuch lehrt, mehr denn sie zerlegt selbst des neutrale Natriumacetat, scheidet also daraus freie Essigsäure aus und bildet ihr eigenes saures Natriumsalz. Es ist gar keine andere Auffassung möglich, als die, dass die Oxyprotsulfonsäure die Essigsäure partiell austreibt, woraus allerdings noch nicht folgt, dass die erhaltene Lösung wirklich freie Essigsäure enthält, denn die Alkalien geben auch saure Acetate [z. B. $C_2H_3NaO_2 + 2\,C_2H_4O_2$] und diese müssen bei genug zugesetztem Acetat vorhanden sein. Die Analogie mit der Lösung in Dinatriumphosphat ist vollkommen: es bildet sich in beiden Fällen saures, oxyprotsulfonsaures Natrium und daneben entweder das saure Natriumphosphat oder das saure Natriumacetat. Dass dieses letztere Salz vorhanden ist, geht daraus hervor, dass in der Lösung von Oxyprotsulfonsäure im Natriumacetat hinzugefügte Essigsäure die Säure ausfällt, und das Gleiche thun noch vollkommener die Mineralsäuren. Man kann leicht mittelst Natriumacetat so concentrirte Lösungen der Oxyprotsulfonsäure herstellen, dass auf Salz- oder Schwefelsäurezusatz die thonerdeartige Fällung die Flüssigkeit gestehen macht und das Proberohr umgekehrt werden kann, ohne dass etwas ausfliesst.

Ebenso wie Natriumacetat verhalten sich noch oxalsaures Ammonium, ameisensaures, benzoësaures, stearinsaures und dreibasich citronsaures Natrium; etwas weniger leicht lösen die neutralen Tartrate. Es sind die genannten Salze solche, wie ich sie eben zur Hand hatte, so dass sich wohl die Angabe von der Löslichkeit der Oxyprotsulfonsäure in neutralen Alkalisalzen

organischer Säuren verallgemeinert hinstellen lässt. Die Alkalisalze der starken Mineralsäuren verhalten sich natürlich nicht so, diese werden nicht mehr zerlegt; in Kochsalz und Glaubersalz ist die Oxyprotsäure daher bis auf Spuren unlöslich. Jedoch ist erwähnenswerth, dass die Anwesenheit dieser Salze das Verhalten zu den organischen Salzen nicht beeinträchtiget. Vertheilt man also z. B. die Oxyprotsulfonsäure in Kochsalzlösung und wirft Krystalle von Natriumacetat hinein, so tritt sofortige Lösung ein.

Hier kann ich auf die unterscheidenden Merkmale von Oxyprotsulfonsäure und Caseïn, wovon ich schon früher pag. 162, gesprochen, zurückkommen. Beide haben zwar gemeinsam, dass sie durch Säuren gefällt werden, allein das gefällte Caseïn löst sich in kleinem Säureüberschuss wieder auf, die Oxyprotsulfonsäure nicht. Ferner, die durch etwas überschüssige Essigsäure bewirkte Caseïnlösung wird durch essigsaures Natron gefällt, während umgekehrt die durch Essigsäure (oder Mineralsäure) gefällte Oxyprotsulfonsäure sich in essigsaurem Natron leicht wieder löst.

Das beschriebene Verhalten bot endlich auch ein erwünschtes Mittel, die Oxyprotsulfonsäure neben Eiweisskörpern aufzufinden und davon zu trennen, denn man weiss ja, dass bei saurer Reaction und Anwesenheit von viel Chlornatrium oder anderen Salzen die Eiweisskörper schon in der Kälte gefällt werden. Es war nämlich denkbar, dass die Oxyprotsulfonsäure auch im thierischen Organismus vorkommen könnte als erstes Product der Oxydation des Eiweisses. Ich habe daher mit einer grösseren Menge Rindsblutserum einen einschlägigen Versuch gemacht, von der Meinung ausgehend, dass einer durch Kochsalz und Säure entstandenen Fällung die eventuell darin enthaltene Oxyprotsulfonsäure durch Natriumacetat wieder entzogen werden müsste. Es wurde dabei aber ein negatives Resultat erhalten; der Körper kommt im Blutserum nicht vor.

Bei der trockenen Destillation verkohlt die Oxyprotsulfonsäure, dabei übelriechende Producte gebend, wie unverändertes Eiweiss.

Die specifische Drehung der in verdünntem Alkali aufgelösten Substanz war $\alpha = -75 \cdot 8$.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Fractionirte Fällung; die einheitliche Natur und Zusammensetzung der Oxyprotsulfonsäure.

Schon Brücke hat auf Grund einer Reihe von Umwandlungen, welche er mit seiner Substanz unbeschadet ihrer Eigenschaften durchmachen konnte, ihre einheitliche Natur in Erwägung gezogen. Die endgiltige Entscheidung war nur durch Analysen der in Fractionen zerlegten Säure möglich, eine Mühe, der man sich bei unkrystallisirbaren Substanzen nicht entziehen kann. Die Zusammensetzung der rohen Säure als Ganzes konnte zunächst dabei unermittelt bleiben, nachdem in zwei verschieden ausgestellten Versuchsreihen, die zuerst beschrieben werden sollen, die Analyse der einzelnen Fractionen ausgeführt wurde. Daran schliesst sich eine Reihe vereinzelnter Analysen.

I. Fractionirte Fällung.

Eine grössere Partie von aus coagulirtem Hühnereiweiss erhaltener Oxyprotsulfonsäure wurde noch feucht in Ammoniak aufgelöst, und in drei Fractionen mit verdünnter Salzsäure gefällt. Dazu diente anfangs eine solche von etwa 1% HCl, welche bei jedem Zugiessen eine in grossen Flocken und Klumpen sich ausscheidende Fällung veranlasste, die beim Bewegen der Flüssigkeit erst schnell, später, als das Ganze bereits sauer reagirte, sich nur langsam wieder löste. Von nun an setzte ich nur ganz verdünnte Salzsäure, solche von $^1/_4$ Procent hinzu, um einen locker flockigen Niederschlag zu bekommen, und zwar so lange, als nach dem Augenscheine für die erste Fraction, die etwa ein Drittel der angewandten Substanz ausmachen sollte, passend war. Der Niederschlag liess sich gut abfiltriren. Aus dem klaren Filtrat, welches stark sauer reagirte, wird dann mit $^1/_4$ procentiger Salzsäure die Fraction zwei, und aus dem Filtrate davon durch complete Ausfällung mit überschüssiger Säure Fraction drei gewonnen. Alle drei Fractionen, welche in ihrem Aussehen nicht zu unterscheiden sind, werden dann jede für sich nochmals in Ammoniak aufgelöst, mit Salzsäure gefällt und so lange gewaschen bis das Waschwasser von jeder Spur Chlor frei ist. Dieses letztere Wiederauflösen und Ausfällen hatte den Zweck, die einzelnen Fractionen unter denselben Bedingungen in die Fällung zu bekommen, denn es wäre ja denkbar, dass man es

zwar mit einer einheitlichen Substanz zu thun hat, dass aber bei geringerem Säurezusatz ein schwer lösliches saures Salz in den Niederschlag geht und erst später die freie Säure selbst. Dieser Möglichkeit ist durch das letztangewandte gleichsinnige Wiederausfällen, wobei jede Fraction überschüssiger Salzsäure gegenüberstand, vorgebeugt.

Die drei Fractionen werden auf Papier, dann in Vacuum über Schwefelsäure getrocknet und sind von der nicht fractionirten Substanz nicht zu unterscheiden. Sie lösen sich leicht und klar in Ammoniak, Barytwasser und Lauge und geben gleich intensiv die Biuretprobe.

Behufs Analyse werden sie, wie alle Präparate, von denen Analysen in dieser Arbeit mitgetheilt werden, bei 105° C. bis zu constantem Gewicht getrocknet, was sich immer in wenigen Stunden erreichen lässt. Doch ist die getrocknete Substanz ziemlich hygroskopisch. Die Verbrennungen geschahen im Schiffchen, die Asche war unwägbar, falls nicht ihr Gewicht angegeben erscheint.

Analysen.

Fraction 1.

0·2053 Grm. Substanz; 0·3862 Grm. CO_2 und 0·1223 Grm. H_2O.

Fraction 2.

0·1603 Grm. Substanz; 0·3009 Grm. CO_2 und 0·0978 Grm. H_2O.

0·4005 Grm. Substanz gaben 50·0 CC. N von 23° und 738 Mm.

Fraction 3.

0·2377 Grm. Substanz; 0·4475 Grm. CO_2 und 0·1517 Grm. H_2O.

0·5055 Grm. Substanz; 65·2 CC. N. von 23·6° und 730 Mm.

Daraus die procentische Zusammensetzung:

	Fraction 1.	Fraction 2.	Fraction 3.
Kohlenstoff	.51·30%	..51·20%	....51·35%.
Wasserstoff	6·62%	6·78%	7·05%.
Stickstoff	—	.14·04%	.14·30%.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

II. Fractionirte Fällung.

Hiebei ist ausser den andern Elementen auch der Schwefel bestimmt worden; die Substanz ist desshalb mit Salzsäure gefällt, und niemals mit Schwefelsäure in Berührung gekommen. Auch sonst bildet der vorliegende Versuch einige Ergänzungen zur Reihe I dadurch, dass die Oxyprotsulfonsäure dieser Reihe aus löslichem Eiweiss dargestellt worden ist, dann aber noch dadurch, dass die fractionirte mit der wiederholten Fällung combinirt worden ist, wobei eine Zerlegung auch dann zu erwarten war, wenn es sich um zwei Substanzen von gegen einander nur geringen Löslichkeitsunterschieden handeln sollte.

Es wurde also die aus 200 Grm. trockenem, käuflichem Eiereiweiss erhaltene Oxyprotsulfonsäure in Ammoniak gelöst und mit Salzsäure in zwei Portionen gefällt, einer ersten grossen und einer zweiten kleinen, wovon ich die letztere nicht weiter berücksichtigte. Die erste Portion, die Hauptmasse darstellend, theilte ich in zwei Theile, davon wurde der eine Theil aus vorher erwähntem Grunde nochmals in Ammoniak gelöst, mit Salzsäure ausgefällt, gewaschen und getrocknet (Fraction α), der andere Theil ebenfalls gelöst und gefällt, doch nicht getrocknet, sondern nach dem Ablaufen des Filtrates neuerdings gelöst, wieder mit Salzsäure gefällt, gewaschen und so fünfmal nacheinander gelöst und wiedergefällt, dann endlich bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgesüsst und getrocknet (Fraction β). Das Wegwaschen der letzten Spuren Chlorwasserstoff währt lange, lässt sich aber immer bewerkstelligen. Die erhaltenen Präparate zeigten das schon beschriebene Aussehen; sie sind bei 105° C. getrocknet worden. Die kleine Aschenmenge ist bei der Procentberechnung in Abzug gebracht worden. Der Stickstoff ist immer als Gas mit dem Schiff'schen Apparate, der Schwefel durch Verschmelzen mit Ätzkali und Salpeter in der Silberschale bestimmt worden.

Analysen.

Fraction α.

1. 0·2261 Grm. Substanz; 0·4193 Grm. CO_2, 0·1350 Grm. H_2O und 0·003 im Schiffchen gebliebener Asche.

2. 0·4390 Grm. Substanz; 57·3 CC. N von 21° C. und 739·5 Mm.
3. 0·5625 Grm. Substanz; 73 CC. N von 22° C. und 732 Mm.
4. 0·934 Grm. Substanz; 0·1184 Grm. $BaSO_4$ oder 0·0163 Grm. S.

Fraction β.

1. 0·2370 Grm. Substanz; 0·4452 Grm. CO_2, 0·1440 Grm. H_2O und 0·0005 Grm. Asche = 0·2 Perc.
2. 0·3010 Grm. Substanz; 0·561 Grm. CO_2; 0·1865 Grm. H_2O und 0·0006 Grm. Asche.
3. 0·6110 Grm. Substanz; 78·3 CC. N von 18° C. und 736 Mm. Dabei in Abzug zu bringende Asche 0·0013 Grm.
4. 0·9880 Grm. Substanz; 0·1277 Grm. $BaSO_4$

Daraus die procentische Zusammensetzug:

	Fraction α	Fraction β
Kohlenstoff.	51·37	51·31 und 50·92
Wasserstoff	6·73	6·77 6·88
Stickstoff	.14·80 und 14·64	14·60
Schwefel	1·75	1·76

III. Weitere Analysen.

Bei diesen war theils das Material ein anderes, als bei den vorhergehenden Analysen, theils die spätere Behandlung der Oxyprotsulfonsäure.

1. Präparat aus coagulirtem Rinderblutserum dargestellt und wiederholt mit verdünnter Schwefelsäure gefällt.

0·3870 Grm. 50 CC. N bei 17° C. und 735 Mm.

0·4948 Grm. 64·5 CC. N bei 21° C. und 732 Mm.

Daraus:

Stickstoff ..14·73%; 14·64%.

2. Aus löslichem Eiweiss dargestelltes Präparat, welches nach dem Trocknen, gepulvert, in concentrirter Salzsäure gelöst, daraus mit Wasser ausgefällt und bis zur Entfernung aller Salzsäure gewaschen wurde.

0·3580 Grm. Substanz; 0·6705 Grm, CO_2.

0·1982 Grm. Substanz; 0·3684 Grm. CO_2, 0·1248 und 0·001 Grm. Asche.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

0·5372 Grm. Substanz; 70·4 CC. N von 18·5° C. und 729 Mm.
1·1235 Grm. Substanz; 0·1460 Grm. $BaSO_4$.

Daraus:

Kohlenstoff.	....51·10% und 51·00%
Wasserstoff	7·03 „
Stickstoff	...14·77
Schwefel	1·78 „

3. Aus Eiereiweiss dargestelltes Präparat, das im frisch gefällten Zustande in einer concentrirten Lösung von essigsaurem Natron aufgelöst und daraus mit Salzsäure wieder gefällt worden ist.

0·2467 Grm. Substanz; 0·4645 Grm. CO_2 und 0·1613 Grm. H_2O.
0·5725 Grm. Substanz; 74·2 CC. bei 15° C. und 728 Mm.
1·372 Grm. Substanz mit Soda und Kaliumchlorat in einer Verbrennungsröhre geglüht, von Kieselsäure befreit etc. gaben 0·173 Grm. $BaSO_4$.

Daraus:

Kohlenstoff	.51·35%
Wasserstoff	7·26
Stickstoff..	....14·76 „
Schwefel.....	1·73 „

4. Endlich sind noch zwei Schwefelbestimmungen mit einem aus löslichem Eiweiss stammenden Präparate, das niemals mit Schwefelsäure in Berührung gekommen war, die eine in der Silberschale mit Ätzkali und Salpeter, die andere im Verbrennungsrohre mit Soda und Kaliumchlorat ausgeführt worden.

0·6700 Grm. Substanz; 0·0807 Grm. $BaSO_4$.
0·6960 Grm. Substanz; 0·1007 Grm. $BaSO_4$.

Daraus:

Schwefel. ..1·65%; 1·98%.

Eine Übersicht des vorstehenden analytischen Materials zeigt zunächst aus der Betrachtung der beiden Reihen mit den fractionirten Fällungen, dass die vorliegende Säure in der That ein völlig einheitlicher Körper ist, und dass sie

in gleicher Zusammensetzung aus coagulirtem wie flüssigem, aus Eier- wie Serumeiweiss erhalten wird. Sie und die anderen Analysen zeigen, dass es gleichgiltig ist, ob die Substanz mit Salzsäure oder Schwefelsäure gefällt wird, dass sie nicht empfindlich für verdünnte Alkalien ist, denn sie kann darin wiederholt aufgelöst und daraus unbeschadet ihrer Zusammensetzung gefällt werden und ferner, dass sie sehr resistent gegen (kalte) starke Mineralsäuren ist, denn sie wird aus der Lösung in rauchender Salzsäure durch Wasser wieder unverändert abgeschieden. Endlich ist die Säure in der durch essigsaures Natron vermittelten Lösung noch unverändert enthalten und durch Mineralsäuren daraus fällbar.

Die geringen analytischen Differenzen gestatten ein Mittel zu rechnen, das möglichst treu die procentische Zusammensetzung der Oxyprotsulfonsäure ausdrücken wird.

C %	H %	N %	S %	O %
51·30	6·62	14·04	1·75	—
51·20	6·78	14·30	1·76	—
51·35	7·05	14·80	1·78	—
51·37	6·73	14·64	1·73	—
51·31	6·77	14·60	1·65	—
50·92	6·88	14·73	1·98	—
51·10	7·03	14·64	—	—
51·00	7·26	14·77	—	—
51·35	—	14·76	—	—
Mittel **51·21%**	**6·89%**	**14·59%**	**1·77%**	**25·54%**

Wer die durchschnittliche Zusammensetzung der Eiweissstoffe in Erinnerung hat, wird sofort bemerken, dass unsere Säure davon verhältnissmässig wenig verschiedene Zahlen gibt und dass sie, obwohl alle generellen Eiweissreactionen versagen, doch noch kein Spaltungsproduct, sondern ein oxydirtes Eiweiss selbst ist. Das wird sich bestimmter ergeben, wenn obige Procentzahlen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

neben jene des Eiweisses gestellt werden. Um den Vergleich so genau als möglich anzustellen, will ich keine einzelne Eiweissanalyse auswählen, sondern aus allen verlässlichen Analysen ein Mittel ziehen.

Eiereiweiss.

	Hammarsten[1]	Dumas und Cahours[2]	Wurtz[3]	Rüling[4]	Schützenberger[5]	Loew[6]	Lieberkühn's[7] gefälltes Eiweiss
C	52·25	53·37	52·79	52·81	52·80	—	53·33
H	6·90	7·10	7·13	7·26	7·20	—	7·08
N	15·25	15·77	15·55	—	[16·60][8]	—	15·74
S	1·93	—	—	1·77	—	1·79	1·83

Serumeiweiss.

	Dumas u. Cahours[9] Mittel	Starke-Hammarsten[10] Pferdeserum
C.	53·50	53·05
H	7·20	6·85
N	15·75	16·04
S.....	—	1·80.

[1] Jahresber. f. Thierchemie **11.** 19.
Gmelin-Kraut, Handbuch etc. VII. 3. Abth. 2228.
[3] Daselbst.
[4] Daselbst.
[5] Beilstein, Handbuch II. 2073.
[6] Jahresb. f. Thierchem. **13.** 25.
[7] Poggend. Annal. **86.** 117.
[8] Diese abnorm hohe Zahl ist nicht bei der Berechnung des Mittels berücksichtigt.
[9] Handwörterbuch d. Chemie. **2.** 1141.
[10] Jahresber. d. Thierchemie. **11.** 19. (Die anderen daselbst von Hammarsten mitgetheilten Serumalbuminanalysen sind pathologischen Flüssigkeiten entnommen; ich lasse sie weg, zumal H. selbst sie von auffallendem Gehalte an Schwefel bezeichnet.)

Wir haben daher folgende zwei Zahlenreihen zur Vergleichung:

	Eiweiss (Mittel sämmtl. Zahlen)	Oxyprotsulfonsäure
Kohlenstoff	...52·98%	51·21%
Wasserstoff	7·09 „	6·89 „
Stickstoff..	.15·70 „	14·59 „
Schwefel..	1·82 „	1·77
Sauerstoff	..22·41 „	25·54 „

Die Oxyprotsulfonsäure enthält 3·13 Proc. Sauerstoff mehr als ihre Muttersubstanz das Eiweiss, die anderen Elemente aber in dem Verhältnisse wie im letzteren, nur durch den Sauerstoffeintritt vermindert. Die Intactheit des Eiweisscomplexes in der Oxyprotsulfonsäure ergibt sich ganz besonders aus dem Schwefelgehalte, der nur um ein halbes Zehntel eines Procentes gegenüber jenem des Eiweisses herabgesetzt ist. Schwefel ist nicht ausgetreten. Die neue Säure erscheint als ein oxydirtes Albumin.

Man kann auch leicht die Menge des bei der Oxydation aufgenommenen Sauerstoffs atomistisch ausdrücken.

Das Atomenverhältniss von Schwefel : Sauerstoff ist in

der Oxyprotsulfonsäure wie 1 : 28·8
dem Eiweiss... 1 : 24·6

d. h. auf jene Menge Eiweiss, welche ein Atom Schwefel enthält, sind in runder Zahl vier Atome Sauerstoff eingetreten, und wenn man wie gewöhnlich annimmt, dass im Eiweissmolekül ein Atom Schwefel enthalten sei, so folgt weiter, dass auch auf ein Molekül Eiweiss vier Atome Sauerstoff eingetreten sind.

Daran schliesst sich die Frage, wo im Eiweissmolekül die gefundenen vier Atome Sauerstoff ihren Angriffspunkt haben.

Auch darüber lässt sich etwas Bestimmtes aussagen, denn es gehört zu den auffallendsten Differenzen, die man zwischen nativem Eiweiss und der Oxyprotsulfonsäure beobachtet, das Verhalten beider zur heissen alkalischen Bleilösung. Das Eiweiss gibt sofort zur Bildung von schwarzem Schwefelblei Veranlassung,

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

unsere Säure, obwohl sie nahezu ebenso viel Schwefel noch enthält, gibt eine ganz farblose Flüssigkeit. Der Schwefel muss also darin im oxydirten Zustande enthalten sein; die bleischwärzende Schwefelgruppe — SH des Eiweisses ist in die Sulfonsäuregruppe — SO_2OH, jene Gruppe, die sich bei jeder stärkeren Oxydation daraus zu bilden pflegt, übergegangen.

Dafür sprechen noch folgende Gründe. Die Sulfosäuren sind starke und beständige Körper, die durch Mineralsäuren nicht zersetzt werden. Beides stimmt. Dass die Oxyprotsulfonsäure Acetate zerlegt, ist beschrieben worden, ebenso dass sie aus ihrer Lösung in rauchender Salzsäure mit Wasser unverändert wieder ausgefällt werden kann. Auch heisse Mineralsäuren spalten keine Schwefelsäure ab; dieses Factum war schon Brücke bekannt, welcher mit Salzsäure von 1·14 specifisches Gewicht erhitzte, zum Theil neutralisirte, und das saure Filtrat mit negativem Erfolge auf Schwefelsäure prüfte. Ich kann dem hinzufügen, dass auch nach forcirterer Einwirkung starker Salzsäure, nämlich nach Erhitzen im geschlossenen Rohre bis auf 130° durch 12 Stunden, keine Spur freier Schwefelsäure gefunden wird. Demgegenüber gelingt, übereinstimmend mit dem Verhalten der Sulfonsäuren, eine Herauslösung des Schwefels als schwefelige Säure durch starke Alkaliwirkung. Schmilzt man mit Ätzkali, bis die organische Substanz zur Hauptsache verbrannt ist, so gibt die Schmelze mit Salzsäure übergossen reichlich Schwefeldioxyd, das, abgesehen vom Geruch, auch durch die Reductionswirkungen nachgewiesen wurde. Auch durch Erhitzen der Substanz mit heiss gesättigtem Barytwasser im eisernen Rohre bei Überdruck wird schwefelige Säure abgespalten; man findet nach mehrstündigem Erhitzen einen Niederschlag, der aus Baryumcarbonat und dem bekanntlich fast unlöslichen Baryumsulfit besteht.

Indem die neue Säure sich als Sulfonsäure zu erkennen gibt, sind von den vier Atomen Sauerstoff, die bei ihrer Bildung eingetreten sind, drei Atome untergebracht. Ich werde später Gelegenheit haben zu zeigen, an welcher anderer Stelle des Eiweissmoleküls das vierte Sauerstoffatom einen Angriffspunkt gefunden hat. Damit rechtfertigt sich der Name Oxyprotsulfonsäure.

Salze der Oxyprotsulfonsäure.

Die Salze der Alkalimetalle, Erdmetalle und des Ammoniums sind in Wasser leicht löslich; kein einziges scheint zu krystallisiren.

Das Ammoniumsalz ist am leichtesten neutral zu erhalten, indem man die Säure in wässerigem Ammoniak auflöst, und die Lösung über Schwefelsäure verdunsten lässt, bis sich die klare, farblose Substanz von den Wänden abblättert. Die damit hergestellte Lösung erzeugt Fällungen mit Silbernitrat, Kupfersulfat, Bleizucker, Chlorcadmium und Nickelsulfat. Keinen Niederschlag geben Zinksalze und Sublimat. Das Silbersalz ist zur Analyse nicht geeignet, denn es löst sich schon beim Auswaschen ziemlich rasch auf und ist stark lichtempfindlich. Quantitative Bestimmungen sind mit den Salzen des Baryums, Natriums uud Kupfers ausgeführt worden.

Baryumsalz.

Auf die Darstellung eines möglichst reinen und neutral reagirenden Barytsalzes ist viel Mühe verwendet worden. Löst man die frisch gefällte und sorgfältig ausgewaschene Säure in Barytwasser und entfernt den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure, so fällt im Filtrat auf Zusatz von Alkohol das Barytsalz als schwerer schneeweisser Niederschlag, der in Alkohol so unlöslich ist, dass das alkoholische Filtrat von Schwefelsäure nur mehr opalisirend wird. So einfach dieses Verfahren erscheint, so stellen sich demselben Schwierigkeiten dadurch entgegen, dass nach Ausfällung des überschüssigen Baryts mit Kohlensäure die ganze Flüssigkeit trübe wird, und sich einer brauchbaren Filtration widersetzt. Man musste etwas Alkohol zusetzen, dadurch einen Theil des Barytsalzes fällen, das dann die unfiltrirbare Suspension des Baryumcarbonates mitriss. So erhielt man klare Filtrate, aus denen durch mehr Alkohol das Barytsalz auf einmal oder fractionirt gefällt wurde. Getrocknet ist es weiss, zerreiblich. Seine Lösung ist völlig neutral auf Pflanzenpigmente aber noch immer trüblich von etwas mitgefallenem Carbonat. Um diesen Rest zu entfernen, muss man das ein- oder zweimal mit Alkohol gefällte Salz in Wasser gelöst, in schmalen, hohen Cylindern stehen und der feinen Trübung acht Tage Zeit lassen zum Niedersinken. Dann

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

bekommt man Präparate, die sich völlig klar lösen, und absolut neutral sind, Sie wurden zur Analyse bei 105° getrocknet. Beim Erhitzen geben sie voluminöse, blasige, langsam verbrennende Kohle und Destillationsproducte von dem Geruch verkohlten Eiweisses.

Die folgenden Präparate sind von drei verschiedenen Darstellungen.

1. 0·6147 Grm. lieferten 0·1275 Grm. $BaSO_4$
2. 0·5105 „ 0·1062 „
3. 0·8010 „ 0·1635 „
4. 0·6790 „ 0·1370 „
5. 0·6852 „ 0·1422 „
6. 0·5925 „ „ 0·1152 „
7. 0·7740 „ 0·1350 „

Daraus Baryum in Procenten:

12·20; 12·23; 12·00; 11·87; 12·20; 11·40; 10·26.

Mittel: 11·73%.

Kupfersalz.

Neutrales, durch Eintrocknen über Schwefelsäure erhaltenes Ammoniumsalz wird in Wasser gelöst und mit essigsaurem Kupfer ausgefällt. Die Fällung wird in zwei Theile getheilt, der eine Theil sorgfältig ausgewaschen und getrocknet (Analyse 1), der andere in verdünntem Ammoniak gelöst und die lasurblaue Flüssigkeit mit sehr verdünnter Essigsäure unter Zusatz von ein paar Tropfen Kupferacetat wieder ausgefällt, hierauf filtrirt und gewaschen (Analyse 2). Die frisch gefällten Niederschläge sind flockig, im trockenen Zustande sind sie dunkelgrün, glasartig, spröde.

Die lasurblaue ammoniakalische Lösung gibt auf Zusatz von Schwefelammonium keine Fällung von Schwefelkupfer, sondern bleibt klar und wird roth.

Die Kupferbestimmungen sind durch Verkohlen im Platintiegel und häufige Befeuchtung des Rückstandes mit Salpetersäure als Kupferoxyd gemacht worden.

Die Analysen 3 und 4 rühren von einer zweiten Darstellung her und beziehen sich auf die directe Fällung.

Kupfer in Procenten:

1	2	3	4	Mittel
5·20	5·70	5·47	5·49	**5·46.**

Natriumsalz; titrimetrische Versuche.

Da das Natriumsalz zur Gewichtsanalyse nicht herstellbar war, sollte eine gewogene Menge der Säure genommen und untersucht werden, mit wie viel einer genau titrirten Lauge sich eine neutrale Lösung herstellen lässt, und weil sich die Säure dazu besonders gut im frisch gefällten flockigen Zustande eignen musste, so wurde die getrocknete (105°) und gewogene Säure in einer beliebigen Menge Lauge gelöst und mit einer dieser Lauge genau äquivalenten Menge Salzsäure wieder vollständig gefällt. Nun hatte man eine bekannte Menge Oxyprotsulfonsäure als flockigen Niederschlag. Lässt man jetzt von der titrirten Lauge zufliessen, so findet zuerst unter Fortbestand der sauren Reaction der Mischung, Lösung des Niederschlages und viel später Eintritt der neutralen Reaction statt, deren Erkennnng mittelst Lakmus am besten gelingt. Meist habe ich zu dem Versuch eine etwas grössere Menge Säure genommen, die Lösung in Alkali auf ein bestimmtes Volum gebracht und in mehrere gleiche Portionen für die Titrirung getheilt.

1. Versuch.

6·366 Grm. bei 105° getrockneter (analysirter) Oxyprotsulfonsäure werden im 500 CC. Kölbchen mit 50 CC. Lauge aufgelöst. (Die Lauge und die dazu gehörige Salzsäure neutralisirten sich genau nach gleichen Raumtheilen: 10 CC. = 0·100 Grm. HCl und 0·0630 Grm. Na.)

Von der 500 CC. betragenden Gesammtlösung habe ich je 100 CC. abgemessen, in ein Becherglas gespült, mit 10 CC. der titrirten Salzsäure und dem Indicator versetzt, dann mit der Lauge die Oxyprotsulfonsäure austitrirt. Es wurden verbraucht auf 100 CC. Lösung:

	a)	*b)*	Mittel
1. bis zum Verschwinden der Fällung	.2·30	2·25	2·27 CC. Lauge

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

	a)	b)	Mittel
2. bis zur neutralen Reaction (Lakmus) .	.9·35	9·50	9·42 CC. Lauge.

Die Berechnung des Versuches gestaltet sich in folgender Weise:

In 100 CC. CC. Lösung sind 1·2732 Grm. Oxyprotsulfonsäure, welche zur Neutralisation 9·42 CC. Lauge = 0·059346 Grm. Na brauchten. Daraus ergibt sich der procentische Natriumgehalt des entstandenen oxyprotsulfonsauren Natriums:

1·27320 Oxyprotsulfonsäure
0·05934 Natrium
1·33254 Summe
0·00256 Minus Wasserstoffäquivalent vom Na
1·32998 oxyprotsulfonsaures Natrium,

welches 0·05934 Grm. oder **4·46%** Natrium enthält.

2. Versuch.

Hiezu diente die analysirte Säure (Reihe II, Fraction α, pag. 174) von der ich 1·3025 Grm. in Lauge löste und mit der äquivalenten Säuremenge fällte. Nun waren wieder 2·2 CC. Lauge nöthig, um alles bis zur Opalescenz zu lösen, und noch 6·1 CC. im Ganzen also 8·3 CC. Lauge oder 0·0520 Grm. Na um lakmusviolette Reaction hervorzubringen. Daraus berechnet sich in der beim ersten Versuch angegebenen Weise 1·3522 Grm. Oxyprotsulfonsaures Natrium mit 0·052 Grm. Natrium oder ein Procentgehalt von **3·84%** Natrium.

3. Versuch.

4·266 Grm. bei 105° getrockneter Substanz werden in 50 CC. Lauge (1 CC. Lauge = 0·0066098 Grm. Na) gelöst auf 500 CC. gebracht.

Im Mittel von drei Einzelnversuchen wurden zur Neutralisation von je 100 CC. Lösung, worin 0·8532 Grm. Substanz enthalten, verbraucht 5·3 CC. Lauge = 0·03503 Grm. Natrium. Daraus berechnet sich für das oxyprotsulfonsaure Natrium ein Gehalt von **3·95%** Natrium.

Natriumgehalt im Mittel aller drei Versuche: **4·08%**.

Im Anschluss daran sei noch erwähnt, dass ein Theil der Lösung von Versuch 3 im zugeschmolzenen Glasrohr ein paar Stunden auf 120° erhitzt, nach dem Erkalten noch fast genau denselben Werth beim Titriren als vorher gab.

Inwieferne die analytischen Resultate über die Baryum- und Kupfersalze und die auf ganz anderem Wege für das Natriumsalz gefundenen zusammenstimmen, ergibt sich bei dem Mangel einer aufgestellten Formel aus der folgenden Zusammenstellung, bei der alle Metalle auf Natrium umgerechnet sind. Sie zeigt, dass die Basismengen einander bis auf die üblichen Versuchsfehlergrössen äquivalent sind.

	Gefundenes Mittel	Daraus berechnetes Natriumsalz verlangt
1. Baryumsalz.	.11·73% Ba	4·24% Na
2. Kupfersalz	5·46 „ Cu	4·06 „
3. Natriumsalz	4·08 „ Na (direct gefunden).	

Verdauung der Oxyprotsulfonsäure.

Die Oxyprotsulfonsäure zeigt sich als dem Eiweiss nahe stehend dadurch, dass sie noch einer typischen Verdauung unter dem Einflusse von Pepsin fähig ist.

Vertheilt man die frisch gefällte Säure in verdünnter Salz-, Schwefel- oder Phosphorsäure, worin sie, wie schon erwähnt, so gut wie unlöslich ist, und stellt sie nach Zusatz von Pepsin in ein Verdauungsbad von 40°, während eine zweite Probe ohne Pepsin zum Vergleiche daneben gestellt wird, so sieht man bald die erste Probe durchscheinend, später bis zur Opalescenz klar werden und nur einige lockere Flocken bleiben am Boden liegen. Die pepsinfreie Probe ist unverändert, weiss geblieben. Der Versuch ist in seinem Verlaufe von der Verdauung feinflockig geronnenen Eiweisses nicht zu unterscheiden und nimmt beiläufig auch dieselbe Zeit in Anspruch. Die drei genannten Säuren sind von anscheinend gleicher Wirksamkeit; aber man kann sogar die Oxyprotsulfonsäure ohne Zusatz einer Verdauungssäure verdauen, wenngleich etwas langsamer: setzt man zur Suspension derselben in Wasser neutrale Pepsinlösung (sie war nach der combinirten

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Methode Brücke-Krasilnikoff bereitet), so tritt auch Verdauung ein und die erhaltene Flüssigkeit ist intensiv sauer. Sie ist aber nicht etwa sauer durch abgespaltene Schwefelsäure, davon ist keine Spur da, sondern durch den löslichen Körper in den die Oxyprotsulfonsäure übergegangen. Der ganze Vorgang ist der einer Selbstverdauung der Oxyprotsulfonsäure, die gewissermassen gleichzeitig Eiweiss und durch eine Seitenkette ihres Moleküls auch Säure ist. Pepsin allein braucht hinzugesetzt zu werden. Man muss daraus schliessen, dass jene Gruppe im Eiweiss, die durch den Pepsincontact die Löslichmachung des ganzen Moleküls bewirkt, in der Oxyprotsulfonsäure ungeändert vorhanden ist. Damit steht in einem gut begreiflichen Zusammenhange, dass Pepton und Propepton, welche schon Verdauungsproducte sind, keine Oxyprotsulfonsäure mehr geben können. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass bei der Oxydation von Pepton dasselbe Product entsteht, wie bei der Verdauung der Oxyprotsulfonsäure, indem im ersten Falle die Peptonisation der Oxydation vorangeht, im zweiten Falle die Reihenfolge der Einwirkungen eine umgekehrte ist. Bestimmtes vermag ich darüber nicht zu sagen, eine selbstständige Arbeit müsste erst dies entscheiden. Doch ein Paar Andeutungen über den bei der Verdauung der Oxyprotsulfonsäure entstehenden Körper — der vielleicht als „Oxypeptonsulfonsäure“ zu bezeichnen sein wird — kann ich anfügen. Es wurde eine grössere Portion ohne Säurezusatz verdaut und erst nach 12 Stunden mit ein Paar Tropfen Phosphorsäure nachgeholfen, worauf nur ein geringer flockig schleimiger Rest widerstand. Das entstandene Product bietet durch seine grosse Löslichkeit und Unkrystallisirbarkeit gewisse Schwierigkeiten für die Untersuchung; es ist eine starke Säure, wird durch Bleisalze gefällt, durch Phosphorwolframsäure, durch Alkohol und gibt starke Biuretreaction.

Es ist nicht unwahrscheinlich, dass im Organismus die Oxyprotsulfonsäure dieselbe Verdauung erleidet und noch Eiweissstelle vertreten kann.

Spaltung der Oxyprotsulfonsäure durch Baryt.

Wenn die Oxyprotsulfonsäure ein oxydirtes Eiweiss ist, so muss sie bei der intensiven Einwirkung von Säuren und Alkalien

die uns bekannten Zersetzungsproducte des Eiweisses der Hauptsache nach wieder geben. Wirklich ergab sich bei mancherlei Vorversuchen, dass Säuren und Laugen sehr andauernd und bei höherer Temperatur einwirken müssen, bevor eine Zerspaltung des Moleküls eintritt. Wirken sie nur kurze Zeit oder sonst mässig ein, so entstehen lediglich lösliche, unkrystallisirbare Substanzen von peptonartigem Verhalten bei gleichzeitig stark saurem Charakter. Wird die Oxyprotsulfonsäure z.B. zwei bis drei Stunden mit verdünnter überschüssiger Schwefelsäure gekocht, so ist sie löslich geworden und wird sie mit stärkerer Lauge einige Zeit im Sieden erhalten, so bekommt man hinterher mit Säuren keine Fällung mehr. Eine Vergleichung mit der Veränderung, die Eiweiss ebenso behandelt erleidet, drängt sich auf, denn dabei findet bekanntlich Peptonbildung statt.

Wird die Behandlung mit der kochenden Schwefelsäure drei- bis viermal 24 Stunden fortgesetzt, so erhält man schon eine gewisse Menge Leucin, aber neben noch viel syrupöser Substanz.

Einen vollkommenen Spaltungsversuch, den ich näher beschreiben will, habe ich mit Ätzbaryt angestellt, wobei ich mich bezüglich der Vergleichung der Zersetzungsproducte der Oxyprotsulfonsäure mit denen des Eiweisses an die wichtigen Arbeiten von Schützenberger[1] und bezüglich der dabei vorkommenden Methoden auch an jene von Hlasiwetz und Habermann[2] halten konnte. Schützenberger hat gezeigt, dass man nur durch tagelanges Erhitzen mit Baryt in geschlossenen Gefässen und Temperaturen von 150 bis 180 und 200° alles Eiweiss zerlegen kann, dass aber dann nur mehr einfachere Körper, Säuren und sein „Melange amidée“ vorhanden sind.

Zum analogen Versuch mit der Oxyprotsulfonsäure dienten 100 Grm. reiner, mit Schwefelsäure gefällter Substanz, die in Barytwasser gelöst, dann noch mit etwa 300 Grm. Ätzbaryt versetzt in einem grossen 5 Ctm. weiten, 50 Ctm. langen, an beiden Enden gasdicht verschraubbaren schmiedeeisernen Rohre eingeschlossen wurden. Nachdem im Luftbade (Kanonenofen) einen

---

[1] Recherches sur l'albumine et les corps albuminoides. Bullet. de la Soc. Chim. **23** und **24**. Ausführlich durch Jahresb. f. Thierchem. **5**. 299. Liebig's Annal. **169**. 150.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Tag lang auf 130 bis 140° C. erhitzt worden war, gab eine Probe verdampft noch Hautbildung und starke Biuretreaction, ebenso noch nach dem zweiten und dritten Tage. Ich stieg dann auf Temperaturen um 170° C. herum, und nach wieder zwei Tagen, also im Ganzen nach fünftägigem Erhitzen, war die Zerspaltung complet, die intermediären peptonartigen Substanzen verschwunden. Eine Probe zur Vertreibung von Ammoniak und Aminbasen trocken gedampft, gab jetzt keine Hautbildung mehr und mit Kali und Kupfersalz auch bei wenig des letzteren keine rothe oder violette, sondern nur mehr die blaue Lösung der Amidosäuren.

Der gesammte, schmutzig-bräunlichgelbe, stark ammoniakalische Rohrinhalt wird dann mit sammt den darin befindlichen unlöslichen Barytverbindungen destillirt. *A.* Destillat, *B.* Rückstand.

A. Das Destillat, welches ausser nach Ammoniak auch nach Ligroin oder Benzol riecht, wird mit Salzsäure sauer gemacht, und zur Zurückhaltung der Basen nochmals destillirt. Das jetzt erhaltene Destillat ist wasserklar, wird aber beim Stehen im Kolben nach zwei Tagen gelbröthlich und setzt ein dunkelrothes Pulver ab, das sich in warmem Alkohol mit rother Farbe löst (Pyrrolroth). Ein mit Salzsäure befeuchteter Span weichen Holzes in das Destillat getaucht, wird nach einigen Minuten dunkelkirschroth. Reactionen auf Phenol treten nicht ein; die Indolreaction mit Salpetersäure ebenfalls nicht. Es ist also in dem basenfreien Destillate nur Pyrrol enthalten. Denselben Körper fand auch Schützenberger bei der Zersetzung von Albumin mit Baryt, wie aus einer späteren kurzen Notiz[1] dieses Autors hervorgeht.

Der saure Rückstand, von dem die pyrrolhältige Flüssigkeit abdestillirt worden, enthielt viel Salmiak, von dem mit absolutem Alkohol eine kleine Menge einer salzsauren Base abgetrennt werden konnte, die mit Platinchlorid gelbe Blättchen gab und wahrscheinlich Methylsalmiak war.

B. Der Rückstand enthielt noch den beim Erhitzen im Rohre gebildeten unlöslichen Barytniederschlag, der zunächst abfiltrirt wurde; *a* = Niederschlag, *b* = Filtrat.

---

[1] Bulletin de la Société chim. 1875. T. **25**. 289.

Der Niederschlag *a*, eine graulich-pulverig-lehmartige Masse, wird mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, wobei sich lebhaft Kohlensäure und schweflige Säure entwickeln. Die barytfreie Lösung abgedampft, gibt Krystalle von Oxalsäure, sonst nichts Fassbares, nur die letzten braunen Tropfen der Mutterlauge von der Oxalsäure gelatiniren.

Im Filtrat *b* war die Hauptmasse der Zersetzungsproducte zu suchen, vor allem die Amidosäuren. Es ist braun und wird von dem noch gelöst vorhandenen überschüssigen Baryt durch genaues Ausfällen mit Schwefelsäure befreit. Dabei war es sauer geworden, was anzeigt, dass ein Theil des Baryts an Säuren gebunden war. Die flüchtigen Säuren werden daher durch Destillation getrennt und das saure Destillat mit kohlensaurem Baryt gekocht, wobei weisse Krystallnadeln und Drusen reichlich erhalten werden.

0·6465 Grm. davon gaben bei 100° getrocknet 0·5885 Grm. $BaSO_4$ = 53·7% Baryum.

Der essigsaure Baryt verlangt ebenfalls 53·7% Baryum, es ist also von den flüchtigen Säuren keine höhere als Essigsäure gebildet worden.

Nach dem Abdestilliren der Essigsäure wird der Destillationsrückstand mit Äther geschüttelt, es gingen jedoch nur ganz unbedeutende Mengen Substanz in den Äther, die als ölige, nicht erstarrende Tropfen hinterblieben, und die Reaction auf aromatische Oxysäuren nicht zeigten.

Die ausgeätherte Hauptflüssigkeit wird nun behufs Entfärbung mit etwas Bleiessig versetzt, sofort mit Schwefelwasserstoff behandelt, das Filtrat vom Schwefelblei eingeengt und zur Krystallisation gestellt. Es schieden sich sehr bald grosse, griesige Massen von rohem Leucin in der bekannten Form ab, und bei weiterem Einengen der Mutterlaugen immer wieder neue Portionen davon, die zuletzt als mattweissgelbe Krusten und Decken auftraten. Das Rohleucin war noch weiter auf Tyrosin zu prüfen; nach mehreren Methoden wurde dies ausgeführt. Eine Partie kochte ich mit mässig starkem Alkohol so lange aus, bis nur mehr eine kleine Menge ungelöst geblieben war und krystallisirte diese aus heissem Wasser um: es erschien nur reines Leucin. Eine zweite Partie verarbeitete ich nach Hlasiwetz'[1] Methode der

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Trennung des Tyrosins vom Leucin, aber auch dabei war nichts zu erhalten, was als Tyrosin angesprochen werden konnte und alle Reactionen auf diesen Körper versagten vollkommen. Es war kein Tyrosin gebildet worden.

Die letzten dicklichen Mutterlaugen des Leucins wurden mit frisch gefälltem Kupferoxyd gekocht, die lasurblaue Lösung direct mit Bleiessig gefällt, der Bleiniederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat wieder mit Kupferoxyd gekocht, um auf asparaginsaures Kupfer zu prüfen. Einige erhaltene undeutliche Kryställchen waren zu wenig, um eine sichere Diagnose auf Asparaginsäure zu machen.

Das blaue Filtrat vom Bleiniederschlag, das von Blei und Kupfer befreit worden war und noch immer etwas Leucin enthielt, unterzog ich mehreren Versuchen um die aromatische Gruppe zu finden, aber vergeblich. Die geringe, noch restirende Menge Substanz setzte dieser Bemühung allerdings bald ein Ende.

Da Schützenberger das Eiweiss in gleicher Weise gespalten und auf ähnliche Weise untersucht hat, so lässt sich vergleichungsweise zusammenstellen, was in beiden Fällen an Spaltungsproducten erhalten worden ist.

Zersetzungsproducte mittelst Baryt:

aus Eiweiss	aus Oxyprotsulfonsäure
Kohlensäure	Kohlensäure
Ammoniak	Ammoniak
Pyrrol	Pyrrol
Essigsäure	Essigsäure
Oxalsäure	Oxalsäure
Leucin	Leucin
Tyrosin	—

Verhalten der Oxyprotsulfonsäure in der Kalischmelze; Vergleich mit dem Verhalten des Eiweisses.

Nachdem die Zerspaltung mit Baryt keine Spur Tyrosin ergeben hat, habe ich die Zersetzung der Oxyprotsulfonsäure mit schmelzendem Kali studirt, und dabei besonders auf die aromatischen Körper Rücksicht genommen, von denen man weiss, dass

[1] Liebig's Annalen. **169**. 160.

sie bei der Kalischmelze aus dem Eiweiss entstehen. Nebst einigen Arbeiten, die sich auf die Entdeckungsgeschichte des Indols beziehen, war mir dabei besonders die Untersuchung Nencki's[1] „Über die Zersetzung des Eiweisses durch schmelzendes Kali" zum Vergleiche von Vortheil. Nencki, welcher das Erhitzen ziemlich hoch, bis auf 290° getrieben hat, fand im Destillat Indol, Pyrrol und Skatol, im Rückstand Phenol und Fettsäuren.

Da die Quantitäten an aromatischen Körpern, welche das Eiweiss liefert, immer nur geringe sind und nach Qualität und Quantität schwanken müssen, je nachdem die Schmelzoperation geleitet wird, so musste mir daran liegen, möglichst gleichartig ausgeführte Versuche zum Vergleiche zu haben. Ich habe desshalb, bevor ich zur Verschmelzung der Oxyprotsulfonsäure überging, einen Versuch mit dem Eiweiss selbst angestellt und dann erst einen in Bezug auf Mengenverhältnisse, Dauer, Temperatur und Untersuchung des Rückstandes genau gleichen Versuch mit Oxyprotsulfonsäure folgen lassen. Aber auch den Eiweissversuch will ich genau und zwar zunächst beschreiben, da er, so wie er angestellt wurde, einiges Neue lehrt, nämlich dass bei mässiger Temperatur geschmolzen, das Indol sich reichlich in der Schmelze selbst findet und ferner, dass dann darin auch eine für das Eiweiss charakteristische aromatische Säure enthalten ist.

Eiweissversuch.

50 Grm. trockenes Hühnereiweiss sind mit dem fünffachen Gewichte Ätzkali in der Silberschale verschmolzen worden. Erst schwimmt das Eiweiss oben in dunkelkrümlichten Massen, vermischt sich dann zu einer schwarzen theerigen Masse, fängt an zu schäumen und wird heller. Nachdem man den Schaum einige Male bis zum vier- bis sechsfachen Volum der Masse hat aufsteigen lassen und die Farbe nur mehr blass gelblichbräunlich ist, wird unterbrochen. Die ganze Operation dauert etwa eine Stunde, die Temperatur stieg wenig über 200°

Die Schmelze wird in überschüssiger verdünnter Schwefelsäure gelöst, die Lösung destillirt. *A.* Destillat; *B.* Rückstand.

---

[1] Journ. prakt. Chem. [2] **17**. 97.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

A. Das Destillat, aufgefangen, so lange Bromwasser noch eine Trübung erzeugt, riecht im höchsten Grade und anhaftend widerwärtig nach Excrementen, reagirt sauer und wird zur Zurückhaltung der Säuren nach Zusatz von Ammoniak neuerdings so lange destillirt, bis im Destillate das Millon'sche Reagens beim Kochen nur mehr sehr schwache Röthung (Phenol) bewirkt. *a)* Destillat; *b)* Rückstand.

a) Das Destillat wird mit Ätzkali versetzt und destillirt, um Indol und Skatol abzutrennen α, dann stark angesäuert und wieder destillirt, um Phenol β zu erhalten.

α

Durch die Destillation mit Ätzkali ist der intensiv fäcale Geruch zumeist verschwunden. Die Indolreactionen 1. mit Pikrinsäure und Salzsäure; 2. mit dem Fichtenspan; 3. mit rother Salpetersäure treten intensiv ein. Nach Nencki's Vorgang wird mit Salzsäure und heisser wässeriger Pikrinsäurelösung ausgefällt und der trockene Niederschlag in einem Retörtchen mit Ammoniak destillirt. In der vorgelegten Eprouvette erstarrt das Übergegangene zu glänzenden Blättchen von den Eigenschaften des Indols und dem Schmelzpunkt 50 bis 53° Skatolreaction tritt auf.

β

Wird mit Wasser auf einen halben Liter gebracht; gibt intensive Reaction mit Bromwasser und Millon's Reagens. 250 CC. davon liefern mit Bromwasser versetzt einen nach dem Trocknen über Schwefelsäure 0·100 Grm. wiegenden Niederschlag. Das ganze erhaltene Phenol entspricht also 0·200 Grm. Tribromphenol.

b) Der Rückstand nach dem Ansäuern weiter destillirt gibt ein stark saures Destillat, das mit Baryumcarbonat gekocht wird. Dicker zum Theil krystallisirender Syrup, der aus viel ameisensaurem, etwas essig- und propionsaurem Baryt besteht.

B. Der Rückstand wird mehrere Male mit Äther ausgeschüttelt, welcher nach dem Abdestilliren ein Säuregemisch

hinterlässt von höheren (öligen) Fettsäuren. Oxalsäure und einer Säure, welche intensive Millon'sche Reaction zeigt, also eine monohydroxylirte aromatische Säure ist. Nachdem die ersteren durch Neutralisation mit Barytwasser gefällt, das Filtrat mit Salzsäure angesäuert und neuerdings mit Äther ausgeschüttelt worden ist, gibt der Äther einen wenig gefärbten Syrup, der nach nochmaliger Reinigung mit Bleiacetat beim Reiben mit dem Glasstab erstarrt. Durch Abpressen und Umkrystallisiren aus Wasser erhält man kleine, weisse, spröde Nadeln und Gruppen, die sich leicht als Paraoxybenzoësäure erkennen lassen. Sie gaben dunkelrothe Lösung beim Kochen mit einigen Tropfen Millon'scher Flüssigkeit, starke Fällung mit Bromwasser, keine auffallende Reaction mit Eisenchlorid. Im Exsiccator und bei 100° werden sie weiss und trübe und schmolzen dann bei 209 bis 210° C. Die Ausbeute betrug trotz der vielen Operationen circa $^1/_2$ Grm.

Seit v. Barth[1] gezeigt hat, dass das Tyrosin bei der Kalischmelze Paraoxybenzoësäure gibt, ist das vorbeschriebene Ergebniss klar; die bei der Hydratation als Tyrosin austretende aromatische Gruppe erscheint bei der Kalischmelze als Paraoxybenzoësäure. Direct aus Eiweiss ist sie aber bisher nicht erhalten worden; Nencki[2] hat sie übersehen, indem er seinen Retortenrückstand nicht mit Äther behandelte, gibt aber doch an, dass der letzte nach Auskrystallisiren des Leucins in minimaler Menge hinterbliebene peptonartige Rückstand mit Millon's Flüssigkeit noch Reaction gab, woraus folgt, dass bei dem Schmelzversuche Nencki's (230° durch etwa 5 Stunden) noch Paraoxybenzoësäure vorhanden war.

Versuch mit Oxyprotsulfonsäure.

Bei der Beschreibung dieses Versuches, wobei die Schmelze genau wie früher hergestellt und untersucht wurde, kann ich mich kurz fassen, und werde nur die Verschiedenheiten gegenüber dem Eiweissversuch angeben.

Die in Schwefelsäure eingetragene Schmelze riecht nach Schwefeldioxyd, aber keineswegs so widerwärtig nach Fäces.

---

[1] Sitzungsber. d. kais. Akad. **52** und **45**.

[2] l. c.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Im Destillat *a)* ist mit den oben genannten Reagentien kein Indol nachweisbar; auch Phenol fehlt fast vollständig, nur Spuren sind nachweisbar. Im Rückstande *b)* ist reichlich Ameisensäure vorhanden, ebenso höhere Fettsäuren, genau wie beim Eiweissversuch.

Der Ätherauszug vom Rückstand *B* gibt ein Extract, das mit Millon's Reagens keine Spur einer aromatischen Oxysäure erkennen lässt. Auch mit Bromwasser wird keine Fällung erhalten und keine Färbung mit Eisenchlorid. Der Rückstand zuerst mit Barytwasser von Fettsäuren und Oxalsäure befreit, wird nach dem Ansäuern nochmals ausgeäthert, dann etwas Schmiere mit Bleizucker entfernt. Nun bleibt eine sehr geringe Menge Rückstand, in dem noch einige Krystalle von Bernsteinsäure anschossen.

Um bei solch' negativem Resultate ganz sicher zu gehen, habe ich dann nochmals eine grössere Menge (100 Grm.) Oxyprotsulfonsäure mit Kali verschmolzen und besonders auf aromatische Säuren gesucht, aber nichts gefunden. Was in den Äther überging, waren lediglich diesmal grössere Mengen von Bernsteinsäure und Oxalsäure.

Zersetzungsproducte durch schmelzendes Kali:

aus Eiweiss	aus Oxyprotsulfonsäure
—	Schwefeldioxyd
Indol	—
Skatol	—
Phenol	—
Paraoxybenzoësäure	—
Säuren der Fettsäurereihe	Säuren der Fettsäurereihe
Oxalsäurereihe	Oxalsäurereihe.

Vergleichender Fäulnissversuch mit Oxyprotsulfonsäure und mit Eiweiss.

Ich habe nun versucht, ob und welche aromatische Substanz bei der Fäulniss sich aus unserer Säure abspalten lässt und zu diesem Zwecke einen genau gleichen Parallelversuch mit Eiweiss angestellt.

130 Grm. trockenes Eiweiss und ebensoviel Oxyprotsulfonsäure andererseits wurden mit je drei Liter Wasser und fauligem Ochsenpankreasinfus in einen, Tag und Nacht geheizten Brütofen gestellt. In den ersten Tagen bekamen beide Portionen in dem Masse als die Reaction sauer wurde, Zusätze von Soda, wovon bei jener der Oxyprotsulfonsäure natürlich viel mehr nöthig war. Später blieb die Reaction von selbst alkalisch bis zum Ende der zweiten Woche, wo der Versuch abgebrochen wurde.

Nach Zusatz von noch etwas Soda wurde von beiden Flüssigkeiten in grossen Retorten ein Drittel abdestillirt.

Im Destillat von gefaultem Eiweiss waren mit Bromwasser und Millon'schem Reagens intensive Reactionen auf Phenol und mit salpetriger Salpetersäure starke rothe Fällung von salpetersaurem Nitrosoindol zu erhalten, in jenem der Oxyprotsulfonsäure keine Spur von beiden.

Die Rückstände von der Destillation, obwohl in ihnen bei der langen Fäulniss von aromatischen Säuren wenig mehr zu erwarten war, habe ich eingedampft, mit Alkohol extrahirt, die Alkoholrückstände mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Überall gingen grosse Mengen Fettsäuren in den Äther, welche theils durch Filtration, theils durch Destilliren mit eingeleitetem Wasserdampf und zuletzt durch Bleizucker zum grössten Theil entfernt werden konnten. Es blieben dann in beiden Fällen nur mehr kleine Mengen von einer syrupösen, jeder Anregung zum Krystallisiren widerstehenden Substanz über, von denen die, welche vom Eiweiss herrührte, die Millon'sche Reaction gab, also noch eine kleine Menge einer aromatischen Oxysäure enthielt, während beim Oxyprotsulfonsäurerückstand auch diese Reaction völlig versagte.

Die aromatische Gruppe in der Oxyprotsulfonsäure.

Nachdem weder Tyrosin noch Phenol, Indol noch p. Oxybenzoësäure oder eine andere aromatische Säure sich aus der Oxyprotsulfonsäure erhalten liess, hätte man glauben können, ja fast müssen, dass eine aromatische Gruppe darin gar nicht mehr enthalten sei und die Oxyprotsulfonsäure nur den oxydirten Eiweissrest mit einfacher Kohlenstoffbindung enthalte.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die Analyse hatte jedoch gezeigt, dass aus dem Eiweiss gar nichts ausgetreten, sondern nur Sauerstoff eingetreten ist; die aromatische Gruppe musste also vorhanden sein.

Einen Anhaltspunkt glaubte ich zuerst an der Hand der von O. Nasse[1] in einer interessanten kleinen Abhandlung eingeführten Gruppenreaction auf monohydroxylirte Benzolderivate zu finden. Nasse hat nämlich gezeigt, dass die genannten Substanzen, gleichgiltig ob sie lange oder kurze Seitenketten haben, ob sie Alkohole, Säuren oder Phenole sind, gleich dem einfachen Phenol, mit Millon's Reagens erhitzt, dunkelkirschrothe Lösung und Niederschlag geben, dass hingegen die hydroxylfreien Benzolderivate, sowie jene, in welchen zwei oder drei Wasserstoffatome durch Hydroxyl ersetzt sind, diese Reaction nicht geben, wie die Di- und Trioxybenzole, die Trioxybenzoësäure etc. Baumann[2] hat sich gleichfalls von der allgemeinen Anwendbarkeit der Reaction auf die einfach hydroxylirten Verbindungen überzeugt und Nasse's Angaben bestätigen können.

Dies drängte zu dem Gedanken, dass bei der Bildung der Oxyprotsulfonsäure eine Oxydation im Benzolkern stattgefunden habe und dass in unserer Säure die aromatische Gruppe zweifach hydroxylirt sei.[3] Dann müssten bei der Zerlegung andere Zersetzungsproducte auftreten, statt Phenol ein Bioxybenzol, statt p. Oxybenzoësäure eine der zahlreichen Dioxybenzoësäuren. Der Bildung von Dioxybenzolen durch directe Oxydation von Monoxyphenol sind allerdings die Erfahrungen nicht günstig, doch gibt es solche Vorkommnisse: im Organismus wird ja Benzol zu Phenol oxydirt.

Das Verhalten der Oxyprotsulfonsäure selbst zu Millon's Reagens steht in artiger Übereinstimmung; sie wird davon, wie schon Brücke angegeben hat, nicht im geringsten geröthet, so wenig wie die Zersetzungsproducte, die sie liefert. Umgekehrt gibt das Eiweiss, an dem Millon die Reaction zuerst kennen

---

[1] Sep. Abdr. aus den Sitzungsber. d. naturforsch. Gesellsch. zu Halle. Vom 8. März 1879.

[2] Ber. chem. Gesellsch. in Berlin. **12**. 1450.

[3] Für eine dreifache Hydroxylirung war in den Analysen nicht genug Sauerstoff gefunden.

gelehrt hat, gleich seinen aromatischen Spaltungsproducten Rothfärbung.

In diesem Sinne habe ich in einer neuen Reihe von Schmelzversuchen nach Dioxybenzoësäuren gesucht; diejenigen, welche Farbreactionen mit Eisenchlorid geben, waren sofort auszuschliessen, aber auch sonst blieb, wie schon früher gezeigt, kaum Material dafür übrig, nachdem die anderen Körper abgetrennt waren. Ich ging also dazu über zu untersuchen, ob ein Dioxyphenol erhältlich sei, die Erfahrungen v. Barth und Schreder's[1] benützend, dass die Natronschmelze zum Theil anders als die Kalischmelze wirkend, bei höherer Temperatur im Wesentlichen die aromatischen Säuren unter Abspaltung von Kohlensäure und Bildung der entsprechenden Phenole zerlegt.

Zwei solcher Natronschmelzversuche habe ich mit 30 und 50 Grm. Substanz und der achtfachen Menge Ätznatron im Silberkessel ausgeführt, den einen bei 290° den anderen bei etwa 350° Die Schmelzen wurden angesäuert, ausgeäthert etc. Die Einzelnheiten übergehend, bleibt mir nur zu erwähnen, dass in den Ätherrückständen weder auf die drei Dioxybenzole noch auf die drei Trioxybenzole irgend eine Reaction eintrat, namentlich weder eine Färbung mit Eisenchlorid noch eine Reductionsprobe.

Nach diesem vergeblichen Bemühen führte endlich eine Reihe anderer Versuche dazu, die aromatische Gruppe zu finden. Ich habe erwähnt, dass gelegentlich des Zerspaltungsversuches mit Ätzbaryt nach dem Aufschrauben des eisernen Rohres ein benzol- oder ligroinartiger Geruch wahrgenommen wurde. Dies brachte auf den Gedanken, dass aus der Oxyprotsulfonsäure die genannte Gruppe als Benzol eliminirt werde und dass bei den Alkalischmelzversuchen sie in Folge dessen verflüchtiget worden sei.

Ich habe daher die Schmelzversuche statt in offenen Gefässen unter Anwendung von Retorten und von mit Eiswasser beschickten Kühlern wieder aufgenommen. Da man in Metallretorten nichts beobachten kann, habe ich stärkerwandige Glasretorten benützt, die in der Regel dem schmelzenden Alkali zwei bis drei Stunden lang Stand halten, bevor sie bersten, was mehr als ausreichend für

---

[1] Sitzungsber. d. kais. Akad., vorgel. 7. April 1879.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

die Zersetzung der Oxyprotsulfonsäure ist. Als Alkali wurde Ätznatron genommen in der sechsfachen Menge der Säure. Sofort der erste Versuch mit circa 50 Grm. Substanz, sowie mehrere folgende gaben ein positives Resultat. Das im Eis aufgefangene Destillat betrug einige CC. wässriger, ammoniakalischer, farbloser Flüssigkeit, auf der gelbe Tropfen eines leichten benzolartig riechenden Öles schwammen. Durch Aussalzen mit Salpeter konnten sie vermehrt und in einem enghalsigen Kölbchen passend gesammelt werden. Zu einer Analyse, der eine Rectification hätte vorhergehen müssen, reichte die Menge nicht aus, aber durch die Nitrirung mit starker Salpetersäure, Verdünnen mit Wasser und Ausschütteln mit Äther, konnte leicht Mirbanöl mit seinem starken Geruche erhalten und die Diagnose auf Benzol erbracht werden.

Benzol bekommt man mittelst Kalk oder Ätznatron aus aromatischen Säuren ohne weitere Seitenkette als die des Carboxyls; also war daran zu denken, dass von der Oxyprotsulfonsäure sich zunächst eine Benzolcarbonsäure (eine der Phtalsäuren oder Benzoesäure) abspalte. Dabei kann man nicht umhin, der älteren Versuche Guckelberger's[1] zu gedenken, welcher bei der Einwirkung des Chromsäuregemisches auf Eiweisskörper Benzaldehyd sowohl als Benzoesäure erhielt, und der Angabe Städeler's[2], dass er, als er die Versuche Bechamp's über die Harnstoffbildung aus Eiweiss wiederholte, bei der Einwirkung von überschüssigem Kaliumpermanganat auf Eiweiss in höherer Temperatur nur etwas Benzoësäure erhielt.

Es ist fast selbstverständlich, dass, wenn sich Eiweiss so verhält, auch die Oxyprotsulfonsäure unter gleichen Umständen Benzoesäure geben muss. Ich habe gleichwohl dies festgestellt.

Oxyprotsulfonsäure wurde mit einem Überschuss von Kaliumpermanganatlösung 10—12 Stunden im kochenden Wasserbade digerirt; die Zersetzung ist dabei weitgehend, denn andauernd entwickelt sich Ammoniak. Nachdem der Braunsteinschlamm filtrirt und ausgewaschen war, wird das Filtrat eingeengt, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Der

---

[1] l. c.

[2] l. c.

Rückstand vom Äther war nach einmaligen Umkrystallisiren aus Petroleumäther, Abpressen und ein bis zweimaligen Umkrystallisiren aus heissem Wasser schneeweisse Benzoësäure vom Schmelzpunkt 121—122° C. Die Ausbeute ist verhältnissmässig reichlich, man kann aus fünf Grm. Oxyprotsulfonsäure bei sauberer Arbeit genügende Menge Benzoësäure zur Diagnose erhalten.

Ebenso bekam ich Benzoësäure, als die Oxyprotsulfonsäure mit Chromsäuregemisch am Rückflusskühler zehn Stunden gekocht und darauf abdestillirt wurde.

Damit erscheint nachgewiesen, dass die aromatische Gruppe in der Oxyprotsulfonsäure nicht mit zwei Carboxylen in Verbindung ist, denn von den beiden schwer löslichen (*m* und *p*) Phtalsäuren, auf welche geachtet worden war, ist keine Spur gebildet worden, während, wenn die beiden Carboxyle die Orthostellung gegeneinander einnehmen würden, die aromatische Gruppe bei der Abspaltung durch das Chromsäuregemisch vollständig verbrannt worden wäre.

Das Benzol und die Benzoësäure sind sonach als Abkömmlinge einer einfach carboxylirten aromatischen Kette zu betrachten, gerade wie die Producte auch, welche das Eiweiss selbst liefert. Aber es fragt sich, wie ist die unerwartete und auffallende Thatsache zu erklären, dass, wenn ein nicht oxydirter Körper bei der Zersetzung Oxybenzolderivate (Phenol und Paraoxybenzoësäure) liefert, derselbe Körper im oxydirten Zustande nur Benzolderivate (Benzol und Benzoësäure) gibt?

Die Erklärung dafür ist nicht schwer zu finden, sie liegt darin, dass bei der Bildung der Oxyprotsulfonsäure aus Eiweiss nicht eine Oxydation im aromatischen Kerne stattgefunden hat, sondern dass der Angriffspunkt der Oxydation jenes Kohlenstoffatom ist, welches die aromatische Gruppe mit dem übrigen Eiweissrest verbindet.

Denken wir uns die aromatische Gruppe mit der Fettkörpergruppe des Eiweisses verbunden, so kann dies, da durch blosse Hydratation Tyrosin auszutreten vermag, kaum anders sein als:

$$\ldots - CH_2 - CH_2 - CH_2 - C_6H_4 - C_2H_3(NH_2) - COOH$$

Fettkörper von Eiweiss. Benzolkern. Tyrosinseitenkette.

wobei die links vom Phenylen gelegenen 3 C Atome den Anfang der damit verbundenen Fettkörperreihe darstellen. Wird Eiweiss,

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

welches also für sich eine Oxybenzolgruppe noch nicht enthält, mit Säuren oder Alkalien zerspalten, so löst sich die aromatische Gruppe unter Aufnahme der Wasserelemente als Monoxybenzol (Tyrosin, beziehungsweise Paraoxybenzoësäure oder Phenol) ab:

$$\begin{array}{ll} & \begin{array}{cc} H & OH \\ | & | \end{array} \\ .—CH_2—CH_2—CH_2 & C_6H_4—[C_2H_3NH_2]—COOH \end{array}$$

während die Fettkörperreihe sich mit einem Methyl schliesst und als Leucin oder dgl. austritt.

In der Oxyprotsulfonsäure ist das dem C_6H_4 zunächst liegende CH_2 zu CO oxydirt:

$$..CH_2—CH_2—CO—C_6H_4—C_2H_3(NH_2)—COOH$$

und wenn Spaltung durch Hydratation eintritt, wird wie beim Eiweiss an derselben Stelle die aromatische Gruppe abgerissen, aber das Hydroxyl wandert zum CO und man erhält Phenylamidopropionsäure beziehungsweise Benzoësäure und beim Glühen mit Alkalien Benzol, und anderseits durch Bildung von Carboxyl eine Säure oder Oxysäure der Fettreihe:

$$\begin{array}{ll} & \begin{array}{cc} OH & H \\ | & | \end{array} \\ .CH_2—CH_2—CO & C_6H_4—[C_2H_3NH_2]\,COOH \end{array}$$

Diese Überlegungen erklären den Unterschied in den aromatischen Zersetzungsproducten zwischen dem Eiweiss und der Oxyprotsulfonsäure; sie sind aber noch in einem anderen Sinne mit den Thatsachen im Einklang, denn es deckt sich damit genau der bei der Elementaranalyse gefundene Sauerstoffgehalt. Von den vier aufgenommenen Sauerstoffatomen sind drei zur Bildung der Sulfonsäure verbraucht worden; das vierte hat die oben angegebene Stellung am Ende der Fettkörperkette.

Es lässt sich als Beitrag für eine einstmalige Erkennung der Constitution des Eiweisses noch Folgendes als wahrscheinlich ableiten:

1. Man hat nur eine aromatische Gruppe im Eiweiss anzunehmen, denn mit jener Änderung welche den Tyrosinausfall unter den Zersetzungsproducten bewirkt, fehlen auch Phenol und Indol vollständig.
2. Auf ein Atom Schwefel im Eiweiss kommt einmal die aromatische Gruppe.

II. und III.

Was ich hier noch vorzubringen habe, bezieht sich wie vorher pag. 116 erwähnt, auf die gleichzeitig und neben der Oxyprotsulfonsäure entstehenden Körper und ferner auf die bei stärkerer Permanganatwirkung aus der Oxyprotsulfonsäure entstehenden Substanzen. Diese Körper sind mir aufgestossen und ich konnte sie nicht ignoriren, ihre Untersuchung, die noch viel Zeit und Arbeit in Anspruch nehmen wird, ist nur auf einige Punkte ausgedehnt worden.

Ad II. Die Rohfiltrate der Oxyprotsulfonsäure enthalten auch dann, wenn nur das Minimum von Kaliumpermanganat genommen worden ist, eine lösliche, schwefelhaltige noch hoch zusammengesetzte Säure als Hauptbestandtheil (vielleicht als einzigen Bestandtheil).

Man kann die Säure daraus ausfällen entweder durch Phosphorwolframsäure oder nach vorhergegangener Neutralisation durch Bleizucker. In beiden Fällen lässt sich das Barytsalz und mit Schwefelsäure daraus die freie Säure darstellen.

Die Phosphorwolframsäurefällung ist sehr voluminös, sie wurde auf Leinenfiltern mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen, abgepresst und durch Verreiben mit Barytwasser zerlegt. Das Filtrat wird mit Kohlensäure behandelt und der gebundene Baryt durch sorgfältiges Ausfällen entfernt, so dass eher eine Spur Schwefelsäure als Baryt noch in Lösung ist. Die Lösung der nun erhaltenen freien Säure wird bei gelinder Wärme eingeengt und nachdem sie syrupdick geworden mit stärkstem Alkohol gefällt. Die weissen flockigen Niederschläge der so gewonnenen freien Säure stellten trocken kreidige Pulver dar, die sich in Wasser völlig klar mit stark saurer Reaction lösen und folgende Reactionen geben:

Mit Silbernitrat nichts, nach Neutralisation mit Ammoniak starke weisse, ziemlich lichtbeständige in heissem Wasser lösliche Fällung; mit Kupfersulfat und Kali intensive violette Lösung; mit Nickelsulfat und Kali gelbe Lösung worin das Nickel durch Schwefelammonium nicht fällbar; mit Bleizucker und Bleiessig weisse Fällungen. Keine Niederschläge treten ein mit Chlorbaryum, Chlorcalcium, Platinchlorid und Ferrocyankalium mehr

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Essigsäure. Die Millon'sche Reaction versagt ebenfalls. Durch Schmelzen mit Soda und Salpeter wird Schwefelsäure gebildet.

Vermittelst der Bleifällung ist eine grössere Menge Substanz dargestellt und durch fractionirte Behandlung auf ihre Einheitlichkeit geprüft worden. Es dienten dazu wieder die Rohfiltrate der Oxyprotsulfonsäure mehrerer Darstellungen, bei welchen auf je 300 Grm. Eiweiss 180 Grm. Kaliumpermanganat angewendet worden war. Zuerst wurde aus den Filtraten durch essigsauren Baryt und soviel Barytwasser, dass neutrale Reaction eintrat, die Schwefelsäure entfernt. Die letzte Trübung des sich schlecht absetzenden Baryumsulfates wird dadurch entfernt, dass mit ein wenig Bleiessig ein Niederschlag erzeugt wird, der die Trübung mit sich reisst. Das Filtrat wird bei gelinder Wärme eingeengt und nun mit Bleiessig ausgefällt. Es entsteht ein massenhafter weisser Niederschlag, der sich aber in überschüssigem Bleiessig auflöst, wesshalb um Verlust zu vermeiden, bei der Ausfällung darauf zu achten ist.

Die Bleifällung wird filtrirt, abgepresst, neuerdings mit viel Wasser zerrührt, wieder auf Leinenfilter gebracht und in diesen mittelst einer Schraubenpresse trocken gepresst, hierauf mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt und durch Barytwasser und Entfernung des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure ein Barytsalz dargestellt, das auf Zusatz von starkem Alkohol als klumpiger oder pflasterartiger Niederschlag ausfällt.

Das Barytsalz wurde nun nach neuerlichem Auflösen durch partielles Fällen mit Alkohol in drei Fractionen zerlegt; dann die dritte Fraction beseitigt und die ersten beiden zusammen wieder in drei Fractionen gefällt und so mehrmals nacheinander. Die einzelnen Barytsalzfractionen sind in Bezug auf den Barytgehalt analysirt worden. Das folgende Skelet gibt die Procentgehalte an Baryt.

I*a*	I*b*	I*c*.	. Fällung.
12·30	12·87	13·10.	proc. Baryum.
vereinigt			
II*a*	II*b*	II*c*.	. Fällung.
12·18	12·34	12·33	. proc. Baryum.
vereinigt			
III*a*	III*b*	III*c*	. Fällung.
12·00	12·08	12·32.	. . proc. Baryum.

Indem man die letzte immer etwas barytreichere Fraction entfernte, kam man zu einem Gehalt von circa 12 Procent Baryt, der sich nicht mehr erniedrigen liess, denn II*a* und III*a* sind nur mehr wenig von einander verschieden, und III*a* und III*b* noch weniger.

Es liegt also auch hier jedenfalls der Hauptsache nach eine einheitliche Substanz vor. Dies geht noch weiter aus einigen auf titrimetrischem Wege angestellten Natriumbestimmungen hervor, davon die eine mit der durch Phosphorwolframsäure, die andere mit der durch Bleiessig gefällten Substanz vorgenommen wurde, denn die erhaltenen Natriummengen sind denen des gefundenen Baryums äquivalent.

Natriumbestimmungen.

1. Substanz aus der Phosphorwolframsäurefällung. 0·6405 Grm. bei 105° getrocknet verbrauchten zur Neutralisation mit Lakmus 3·8 CC. Lauge (1 CC. gleich 6·61 mgr. Na) oder 0·251 Grm. Natrium, woraus sich für das entstandene Natriumsalz ein Gehalt berechnet von:

4·08% Natrium.

2. Substanz aus der Bleiessigfällung. Hiezu diente eine Säure, die aus den noch erübrigten analysirten Baryumsalzen durch genaues Zerlegen mit verdünnter Schwefelsäure, Einengen im Vacuum und Fällen mit Alkohol erhalten war. 0·776 Grm. bei 105° getrocknet verbrauchten bis zur Violettfarbe 5·1 CC. Lauge (obigen Titers) oder 0·0337 Grm. Natrium, woraus sich für das entstandene Natriumsalz rechnet ein Gehalt von:

4·16% Natrium.

Das Verhalten der vorerwähnten Barytsalzfractionen zu Reagentien war untereinander das gleiche und auch nicht verschieden von der mittelst Phosphorwolframsäure gefällten Substanz, wenn sie mit Baryt oder Kali neutralisirt worden war; ich brauche also diese Reactionen nicht nochmals zu wiederholen.

Elementaranalysen sind zwei ausgeführt worden, nebst einer Schwefelbestimmung.

Das Mittel davon ist:

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Kohlenstoff	— 48·20
Wasserstoff	— 6·65
Stickstoff	— 13·40
Schwefel	— 2·00
Sauerstoff	— 30·00
	100·00

Was sich demnach über die lösliche neben der Oxyprotsulfonsäure entstehende Säure auf Grund der unvollkommenen Untersuchung sagen lässt, ist Folgendes: Die Säure ist durch die Eigenschaft Biuretreaction zu geben noch der Eiweissgruppe nahestehend, durch ihre Löslichkeit dem Pepton. Sie ist aber bereits weiter oxydirt als die Oxprotsulfonsäure, und zwar nicht blos wie letztere durch Eintritt von Sauerstoff, sondern auch durch Herausholung von Kohlenstoff, infolge dessen der Schwefelgehalt erhöht worden ist. Der Schwefel selbst ist nicht bleischwärzend, also in Form von Sulfonsäure noch enthalten.

Da auch die aromatische Gruppe in der Säure noch enthalten ist, wie daraus hervorgeht, dass sie mit Kali geschmolzen Benzol, mit Chromsäure gekocht Benzoësäure liefert, so folgt, dass diese weitere Oxydation im Eiweiss die Fettkörpergruppe betroffen haben muss.

Ad III. Der letzte Theil der vorliegenden Arbeit betrifft endlich die weitere Oxydation der Oxyprotsulfonsäure mit Kaliumpermanganat. Doch ist dabei die Oxydation bei gewöhnlicher Temperatur gemeint, nicht jene beim Kochen, wobei, wie schon früher erwähnt worden ist, eine völlige Zersetzung unter Abspaltung von Ammoniak, Basen und Benzoësäure eintritt. Aus der Tabelle auf pag. 160 ist ersichtlich, dass, wenn das Kaliumpermanganat 140% vom Eiweissgewichte beträgt, Oxyprotsulfonsäure nicht mehr erhältlich ist und es ist dort angedeutet, dass eine solche weitere Oxydation ein zweites Stadium bedeutet, denn sie läuft viel langsamer ab. Ich habe mehrmals grössere Mengen Eiweiss bis zum Verschwinden der Oxyprotsulfonsäure oxydirt in der Absicht, die dann vorhandenen Körper zu untersuchen, doch habe ich dabei keine brauchbaren Resultate bekommen und davon abgelassen, da in solchem Falle die Verhältnisse dadurch complicirt waren, dass neben dem oder

den weiteren Oxydationsproducten der Oxyprotsulfonsäure auch jene der neben ihr gebildeten löslichen vorher besprochenen Säure vorhanden sein musste.

Es musste daher der Umweg eingeschlagen werden, vorerst die Oxyprotsulfonsäure auszufällen, zu waschen, dann in Alkali zu lösen und jetzt erst weiter mit Permanganat zu behandeln.

Um dabei Anhaltspunkte für die Verarbeitung grösserer Mengen Substanz bezüglich der Menge des bei gewöhnlicher Temperatur noch einwirkenden Reagenses zu haben, wurde wieder eine Reihe Lösungen von oxyprotsulfonsaurem Kali von bekanntem Gehalt mit steigenden Mengen Permanganat versetzt. Binnen der ersten acht Tage wurden, bei Zimmertemperatur auf trockene Oxyprotsulfonsäure berechnet, 90 bis 100% Kaliumpermanganat reducirt; im Filtrat ist dann nur noch eine kleine Menge Oxyprotsulfonsäure durch Schwefelsäure ausfällbar. Dieser letzte Rest widersteht dann aber ziemlich lange und man muss im Ganzen etwa 150—170% Permanganat hinzufügen, bevor er völlig verschwunden ist.

Bei einer Darstellung im Grösseren sind 130 Grm. trockener Oxyprotsulfonsäure mit 220 Grm. Kaliumpermanganat und 3 L. Wasser bis zur Bildung eines farblosen Filtrates, wozu etwa zwei Wochen nöthig waren, stehen gelassen worden. Die Filtrate von voluminösem Manganschlamm nebst den Waschwässern, welche noch die intensive Biuretreaction gaben, wurden mit Essigsäure neutralisirt in gelinder Wärme verdunstet. Auch hier war noch die Hauptmasse der vorhandenen Substanz durch Bleisalze fällbar, und deshalb ist in gleicher Art wie bei der Verarbeitung der vorher beschriebenen Säure verfahren worden: Fällung mit Bleiessig, Abpressen, Zerlegen mit Schwefelsäure, Überführung in Barytsalz und fractionirte Fällung mit starkem Alkohol.

Die erhaltenen Barytsalze sind schneeweisse schwere Pulver, in Wasser leicht zu klaren neutralen Flüssigkeiten löslich. Die Lösungen werden gefällt von Alkohol, von Silbernitrat, von Quecksilbernitrat, von Phosphormolybdänsäure. Millon's Reaction tritt nicht ein. Die aus dem Barytsalz abgeschiedene Säure ist noch stickstoff- und schwefelhältig. Biuretreaction wird sehr stark erhalten. Die aromatische Gruppe ist noch darin und tritt beim Kochen mit Chromsäuremischung als Benzoësäure aus.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die drei nacheinander fractionirt gefällten Barytsalze enthielten:

a.	.28·77% Barium
b.	.{27·75 / 27·80}%
c.	.28·48%

So gering dieses analytische Material ist, so zeigt es doch, dass auch eine genauere Bearbeitung der weiteren Oxydationsproducte wichtige Resultate verspricht, indem, was wir sonst in der Eiweisschemie lebhaft vermissen, in der vorsichtig gesteigerten Einwirkung des Kaliumpermanganats gefunden zu sein scheint: ein stufenweiser Abbau des Eiweissmoleküls. Denn die verhältnissmässig hohen Baryumgehalte der zuletzt erwähnten Salze entsprechen einer Säure, welche, wenngleich sie noch immer durch die aromatische Gruppe und den die Biuretreaction gebenden Atomcomplex der Eiweissgruppe nahe verwandt ist, schon ein viel kleineres Molekül besitzen muss.

Bei der vorstehenden Arbeit habe ich mich häufig der sorgfältigen und tüchtigen Mithülfe von Herrn Friedrich Emich zu erfreuen gehabt.